UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Faculté de Pharmacie

Année 1936-1937 N° 164

ETUDE

DE L'INFLUENCE DU VIDE SUR QUELQUES CHAMPIGNONS INFÉRIEURS

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le janvier 1937
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention PHARMACIE)

PAR

René SCHORLE
Pharmacien

JURY

MM. A. SARTORY, Doyen, Professeur, *Président*
Y. VOLMAR, Professeur
R. SARTORY, Chargé des fonctions d'Agrégé et du cours de Matière Médical

---

WISSEMBOURG
IMPRIMERIE ACKERMANN

1936

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Faculté de Pharmacie

Année 1936-1937 N° 164

ETUDE

DE L'INFLUENCE DU VIDE SUR QUELQUES CHAMPIGNONS INFÉRIEURS

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le janvier 1937
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention PHARMACIE)

PAR

René SCHORLE
Pharmacien

JURY

MM. A. SARTORY, Doyen, Professeur, *Président*
Y. VOLMAR, [illegible], Professeur
R. SARTORY, Chargé des fonctions d'Agrégé et du cours de Matière Médical

WISSEMBOURG
IMPRIMERIE ACKERMANN

1936

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ✻, I. ⚙, C. ⚙
Y. VOLMAR, *Assesseur*, I. ⚙
CUVIER, *Secrétaire*, A. ⚙

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ⚙, ⚙

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ✻, I. ⚙, C. ⚙	Bactériologie
	LAVIALLE, I. ⚙, ⚙	Botanique
	VOLMAR, I. ⚙	Chimie organique
	GUILLAUME, ✻, ⚙, I. ⚙, ⚙	Pharmacie galénique
	LAPP, A. ⚙ I.	Chimie analytique
	N... (CORDIER, chargé du cours)	Pharmacie chimique
	N... (R. SARTQRY, chargé du cours)	Matière médicale

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ⚙, ⚙

CHARGÉ DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ

M. R. SARTORY, ⚙

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	A. SARTORY	Hygiène
	LAVIALLE	Hydrologie
	VOLMAR	Chimie minérale
	DUQUÉNOIS	Toxicologie
	GUILLAUME	Zoologie
	LAPP	Physique
	EISENMANN	Législation et Déontologie
	CORDIER	Chimie biologique
	R. SARTORY	Cryptogamie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	R. SARTORY	Bactériologie et Parasitologie
	COLLARD, I. ⚙, ⚙	Chimie pharmaceutique
	BOHN, A. ⚙	Histoire naturelle
	DUQUÉNOIS	Chimie et Physique

A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR

A. SARTORY

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de Strasbourg
Commandeur de la Légion d'Honneur
Président du Jury de ma Thèse

Témoignage de vive admiration et de respectueuse reconnaissance.

A MES JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR

Y. VOLMAR

Directeur au Laboratoire de Chimie
à la Faculté de Pharmacie
de Strasbourg

MONSIEUR

R. SARTORY

Chargé de Cours
à la Faculté de Pharmacie
de Strasbourg

Hommage de profonde gratitude.

A MA MÈRE

A MON PÈRE

Auxquels je dois tant

En signe d'affection profonde.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548005_0058

MEIS ET AMICIS

INTRODUCTION

Notre étude sur l'anaérobiose porte sur quatre champignons dont trois ont déjà été étudiés et examinés quant à leur morphologie et à leurs propriétés biologiques. Le quatrième est un champignon que nous avons étudié nous-même et dont nous donnerons les caractères morphologiques et biologiques plus loin.

Les souches des trois premiers champignons sur lesquels nous avons étudié les effets de l'anaérobiose et les modifications en atmosphère pauvre en oxygène sont :

1° Mucor spinosus Van Tieghem étudié et décrit par R. SARTORY (1).

2° Aspergillus fumigatus var. cellulosae isolé et étudié par A. & R. SARTORY et J. MEYER (2) et décrit plus tard par BAEUMLI (3).

3° Eurotium diplocyste cité par A. & R. SARTORY, G. HUFSCHMITT et J. MEYER (4) et décrit après par A. & R. SARTORY et J. MEYER (5).

Enfin le quatrième champignon est un champignon que nous avons pu classer, après avoir effectué son étude, dans la famille : Eurotium. Son appareil conidien le range, comme nous le verrons, dans le genre aspergillus. Il a été isolé d'une mycose dentaire chez une femme qui avait toutes les dents noires.

Nous avons divisé notre travail en deux parties.

Dans le chapitre I de la première partie nous donnons un aperçu historique sur l'origine de l'anaérobiose et sur toutes les méthodes de culture en anaérobie.

Le chapitre II comprend la description du Mucor spinosus, de l'Aspergillus fumigatus var. cellulosae et de l'Eurotium diplocyste.

La deuxième partie donne l'exposé de nos recherches personnelles. Nous l'avons divisé en plusieurs chapitres.

Le chapitre I expose nos recherches sur le champignon isolé d'une mycose dentaire et cité précédemment. Nous y donnons un aperçu sur ses propriétés morphologiques et biologiques, et nous essayons de déterminer son genre.

Dans le chapitre II, nous décrivons l'appareil à vide dont nous nous sommes servis.

Les chapitres III, IV, V et VI donnent les résultats de nos travaux sur les modifications morphologiques et quelques modifications biologiques constatées respectivement chez le Mucor spinosus, l'Aspergillus fumigatur var. cellulosae, l'Eurotium diplocyste et le champignon décrit par nous, en anaérobie.

Ayant constaté que le manque d'oxygène n'empêche pas les champignons de vivre, nous nous sommes proposé dans le chapitre VII de nous servir de cette propriété pour vérifier et compléter un travail publié par M^me^ LALLEMAND (6).

Enfin dans un chapitre VIII nous résumons les résultats de nos expériences et nous en formulons les conclusions.

Ce travail a été élaboré et mis au point au Laboratoire de Bactériologie et Cryptogamie de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

Nous prions notre cher Maître Monsieur le Professeur A. SARTORY, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, de bien vouloir agréer ici l'expression de toute notre reconnaissance et nos plus vifs remerciements pour l'accueil qu'il nous a réservé. Sa haute compétence, son expérience et sa grande bienveillance à nous conseiller, ont grandement facilité notre tâche.

Notre gratitude va aussi à Monsieur le Professeur VOLMAR et à Monsieur R. SARTORY, Chargé des fonctions d'Agrégé à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, qui ont bien voulu accepter de faire partie du Jury de cette Thèse.

Notre reconnaissance et nos remerciements les plus sincères à Monsieur J. MEYER, Assistant de Bactériologie de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, pour les conseils éclairés qu'il a bien voulu nous donner avec amabilité et une extrême complaisance.

PREMIÈRE PARTIE

Chapitre I[er]

Origine de l'anaérobiose

Aperçu historique

Les premières observations quant à la nécessité de l'oxygène ou de l'air pour l'évolution des organismes ont été faites au 17[ème] siècle. C'est MALPIGHI (7) qui constata que la germination ne peut se faire en absence d'oxygène. En 1693 ceci a été confirmé par HORNBERG (6). Des expériences sur le besoin d'oxygène ont été faites à la même époque par SCHEELE, LAVOISIER, INGENHOUSE.

SAUSSURES (9) fit des observations très intéressantes sur la respiration des plantes. Il constata des différences quant à l'absorbtion d'oxygène, différences résultant de la nature de la plante et de la partie de la plante mise en expérience. Une chose qui était générale c'est que le manque ou l'appauvrissement en oxygène entravait la croissance. Il constata aussi que les plantes, suivant les endroits où elles vivent (eau, marécages, montagnes) avaient besoin de plus ou moins d'oxygène. De même il a observé, que la même plante présente des variations nettes, suivant la proportion d'oxygène dans laquelle elle vit.

CH. LORY (10) et CHATTIN (11) travaillèrent sur la respiration des phanerogames dépourvus de chlorophylle.

La respiration des mousses et algues est étudiée par GRISCHOW, JANSON et surtout par BONNIER & MANGIN (12) en 1883 ; celle de lichens par GRISCHOW en 1819, en 1875 par GODLEWSKI (13) et par JUMELLE (14) en 1891. GRISCHOW, MARCET et en 1884 BONNIER & MANGIN (15) ont travaillé sur la respiration des champignons supérieurs.

Enfin PASTEUR (16) consacra de nombreux travaux à la respiration des champignons inférieurs. Ses travaux ont été continués par DIAKONOW et SCHUTZENBERGER.

Il est évident que bientôt on s'aperçut que l'absorption d'oxygène dépendait beaucoup des conditions physiques externes

telles que température, lumière, traumatisme et blessure, conditions d'humidité, influence de produits chimiques et enfin influence de diminution de pression et manque d'oxygène. Les savants furent amenés à se demander s'il n'y avait pas d'organismes qui ne sont pas faits comme les plantes supérieures et les animaux pour vivre dans la pression normale, à rechercher les écarts de pression supportables par les organismes et comment ils les supportent.

C'est PASTEUR qui a donné la première impulsion à l'étude de l'anaérobiose dans une petite publication dont le titre était „ANIMALICULES INFUSOIRES VIVANT SANS GAZ OXYGÈNE LIBRE ET DETERMINANT DES FERMENTATIONS".

Il y a décrit le vibrion butyrique découvert par lui, et qui vit en absence complète d'oxygène. C'est lui aussi qui fit les premières remarques sur les conditions permettant aux anaérobies de vivre malgré la présence d'oxygène. Il faut, dit-il, les mélanger à des microorganismes, qui eux ont besoin d'oxygène et les cultiver dans un milieu liquide profond. Les aérobies se développent à la surface et empêchent l'air d'arriver au fond, où se développent les anaérobies. Il partagea les microorganismes en deux grandes classes:

Les „*aérobies*", qui se servent de l'oxygéne libre de l'air, et les „*anaérobies*", qui vivent sans qu'il y ait de l'oxygène libre, mais se procurent cet oxygène à partir de substances organiques qu'ils décomposent. Et c'est, toujours d'après PASTEUR, ceci qu'on appelle fermentation. „La fermentation est la vie sans air" dit-il. C'est là la première explication de l'anaérobiose. Ceci semblait incompréhensible à l'époque et on chercha à expliquer les observations de PASTEUR par des fautes de manipulations et d'interprétations. Il semblait impossible que la vie pourrait être sans oxygène libre; sans lui pas de respiration et pas d'oxydation. D'où alors pourrait provenir l'énergie nécessaire à l'organisme pour vivre et se reproduire? PASTEUR (17) et NENCKI (18) dans des exposés détaillés, parvenaient à triompher de leurs adversaires. OMELIANSKI (19) est de l'avis que les idées développées par PASTEUR ne contredisaient nullement les théories déjà existantes. Il suffit qu'à côté de l'énergie vitale produite par l'oxydation il y ait d'autres catégories d'énergies. En aérobie comme en anaérobie il y a production d'énergie permettant la vie et la croissance; la différence n'existe que dans la production de cette énergie. Les microorganismes, qui sont capables de se fournir cette énergie par la décomposition de composés organiques complexes, seront indépendants de l'oxygène libre de l'air et susceptibles de vivre dans le vide.

Depuis on a trouvé que les anaérobies sont extrêmement répandus dans le monde ; il y en a dans le sol, les marécages, le fumier, les excréments, en un mot, partout où se fait la décomposition de matières organiques.

Depuis aussi l'écart considérable qu'il y avait entre aérobies et anaérobies a diminué et est comblé par une gamme de microorganismes anaérobies facultatifs qui vivent en présence et en absence d'air. Ces organismes se comportent très différemment suivant qu'ils sont aérobies ou non. L'anaérobiose influe sur certaines propriétés fondamentales des des organismes. SELLARD (20) observa sur sept organismes qu'il étudia, que, alors qu'ils liquéfiaient la gelatine en aérobiose, ils perdaient cette propriété en anaérobiose, bien que les cultures étaient aussi riches dans les deux cas.

D'après PORODKO (21) la diminution progressive de l'oxygène fait varier d'autres propriétés chez certaines bactéries. La propriété de secréter des pigments disparaît tout d'abord d'après lui.

En 1893 CHUDJAKOW (22) fit des expériences avec anaérobies facultatifs et obligatoirs. Il travailla sous une cloche à vide. Il constata que, pour le bactérium butyricum l'influence de l'oxygène est d'autant plus nocive qu'elle est plus longue.

Il fit des expériences avec cent milieux différents et trouva qu'aucun milieu ne permettait au bacille de vivre s'il n'y avait pas d'oxygène. Donc, l'oxygène a une action nocive indépendante de la composition du milieu de culture. Mais depuis on n'est plus d'accord avec lui et il nous semble prouvé que la sensibilité des microorganismes vis-à-vis de l'oxygène dépend, dans une certaine limite, de la composition du milieu de culture. OMELIANSKI (23) et TAROZZI (24) ont fait des expériences probantes à ce sujet. PORODKO (25), dans un travail remarquable détermina le maximum et le minimum de pression que peuvent supporter un certain nombre de microorganismes, parmi lesquels quelques champignons. Il constata aussi que ces limites dépendent pour les mêmes organismes du milieu de culture employé. Bientôt on remarqua que des organismes dit aérobies peuvent vivre dans une atmosphère très peu dense en oxygène.

MATZISCHIKA (26) & WIELER (27) ont fait des expériences intéressantes le premier pour les bactéries, le deuxiéme pour les champignons. Ils ont notamment trouvé que le Mucor mucedo et le Phycomyces nitens se développent relativement bien à une pression de quelques millimètres. CHUDJAKOW (28) remarque que tout le développement

de l'Aspergillus niger peut se faire dans une atmosphère contenant 0,13% d'oxygène, ce qui correspond à une pression de 5 à 10 m/m. Ces organismes semblent donc appartenir aux anaérobies facultatifs. Encore faut-il, d'aprés BEYRINK, subdiviser ces derniers en anaérobies facultatifs permanents et anaérobies facultatifs temporaires; ces derniers ne peuvent se développer en anaérobie que durant quelques générations. C'est ainsi que les levures, qui pourtant semblent parfaitement se conformer aux conditions de l'anaérobiose, ont de temps en temps besoin de présence d'oxygène.

KLEBS (29) a déterminé le minimum de pression nécessaire à l'Aspergillus repens, au Mucor racemosus et au Sporodinia grandis. Il trouve pour l'Aspergillus repens que 5 m/m de mercure permettent encore la formation d'appareils conidiophores; le mycelium se forme encore à une pression inférieure. Pour les deux autres champignons les résultats sont semblables.

D'après DEUBELT (30) le manque d'oxygène empêche la formation de pigments chez le Penicillium africanum.

MUNK (31) observe que la diminution de la pression favorise la formation de ce qu'on appelle coremies chez certains Penicillium.

En 1919 A. BOQUET et L. NEGRE (32) ont obtenu des cultures identiques dans de l'eau peptonée à l'air et dans le même milieu couvert d'huile de paraffine; mais les colonies sont plus lentes à se développer.

A. SARTORY, R. SARTORY et J. MEYER (33) disent que l'Aspergillus fumigatus FRESENIUS, issu de souches sexuées peut vivre dans le vide alors que issu des souches asexuées il ne se développe pas. Les appareils reproducteurs et mycéliens ont évolué vers des formes de souffrance qu'ils nomment formes caratées. Les dimensions ont augmenté, les membranes ont épaissi.

Il nous a semblé d'autant plus intéressant d'étudier l'influence du manque d'oxygène sur l'Eurotium diplocyste, le Mucor spinosus, l'Aspergillus fumigatus var. cellulosae et l'Eurotium que nous avons étudié, que mucor et aspergilus sont des parasites courants de la cellulose et que les polémiques au sujet de la dégradation de la cellulose sont encore ouvertes. Certains auteurs prétendent que les champignons agissent en aérobie, d'autres que c'est en anaérobie. Selon LOEHNIS cette décomposition se fait dans les deux conditions. OMELIANSKI trouve des bactéries qui n'agissent qu'en anaérobiose. VAN ITERSON distingue une processus en anaérobiose dû à des bactéries et des champignons.

R. SARTORY a fait remarquer qu'il était intéressant d'examiner ces champignons en conditions aérobies et anaérobies.

D'autre part l'Eurotium diplocyste ayant été découvert dans une onychomycose, il semble qu'il s'adapte aux conditions anaérobies. Il nous a paru fort intéressant de l'étudier en anaérobie, et d'établir éventuellement les rapports existant entre les formes présentées dans les débris d'ongles et les formes en anaérobie.

Nous donnerons maintenant une revue détaillée des méthodes de culture en anaérobie, pratiquées jusqu'à ce jour.

Pour faire une bonne culture en anaérobie il faut deux conditions.

I. Débarasser le milieu de culture de l'oxygène qui y est dissous.

II. Empêcher le contact de l'oxygène atmosphérique avec le milieu.

Quatre genres de méthodes ont été employés jusqu'à présent.

Les voici :

1. Débarasser par ébullition le milieu de culture de de l'oxygène qui y est dissous et empêcher par une fermeture herméthique l'arrivée de l'air.

2. Débarasser le milieu de culture de son oxygène par des gaz sans influence sur les microorganismes cultivés et ensuite fermeture herméthique.

3. Combinaison chimique de l'oxygène du milieu avec un corps avide d'oxygène.

4. Enlever l'air du milieu de culture et du récipient où se fait la culture par une trompe à vide

Nous donnerons un aperçu sur les différentes méthodes employées pour les quatre genres de procédés de culture en anaérobie.

Premier genre: Débarasser le milieu de l'air par ébullition et empêcher l'arrivée de l'air par fermeture.

R. KOCH (34), SANFELICE (35), FEHRS et SACHSMUECKE (36), cherchent à empêcher le contact entre milieu et atmosphère en recouvrant le milieu de débris de verre stérilisés.

ZSCHOKE (37) recouvre le milieu solide, coulé dans le couvercle d'une boîte de Petri, avec le fond de la boîte.

Ces méthodes sont très peu rigoureuses.

Pour des milieux liquides ou solides dans des tubes, ROUX (38) et HIBLER (39) ont recommandé de fermer le tube par fusion, tandis que REUSCHEL (40) conseille de fermer par pression le tube de caoutchouc qui sert à enlever l'air.

GAFFKY (41), W. & R. HESSE (42), WEICHSELBAUM (43), LIBORIUS (44), LUDERITZ (45), FRENKEL (46) VEILLON & ZUBER (47), BURRI (48), GHON & SACHS (49), V. HIBLER (39), WUERCKER (50), PLAUT (51), RIVAS (52), WEINBERG & SEGUIN (53), TIETZE & KORBSCH (54), THOMSON (55), GATES & OLITZKY (56), ont sans fermer herméthiquement le récipient contenant le milieu, recouvert simplement le milieu liquide, pâteux ou solide, avec de la purée de pomme de terre, de l'agar, de la gelatine, de l'huile, de la paraffine liquide ou solide, de la stéarine et de la vaseline.

KITT (57) trouve que la partie crêmeuse du lait conviendrait bien. Aujourd'hui on se sert encore beaucoup de la pipette de Roux et de la méthode empêchant le contact de l'air avec le milieu liquide grâce à l'huile de paraffine.

Deuxième genre: Chasser l'air par des gaz inertes.

Fermeture du rècipient de la culture.

C'est HAUSER (58) qui le premier, s'est servi de cette méthode. HUPPE (54) et C. FRENKEL (40) ont fermé le récipient avec des bouchons en caoutchouc à deux trous. Par l'un des trous passe un tube allant jusqu'au fond du récipient, pour l'adduction d'hydrogène. Par l'autre passe un deuxième tube qui ne va que jusque au-dessous du bouchon, pour permettre la sortie de l'air chassé. Après avoir fait marcher l'appareil pendant un moment, les deux tubes sont fermés à la lampe.

PETRI & MAASEN (60) conservent le principe, mais il y a une modification à leur appareil:

les deux tubes, au lieu de passer par les bouchons, font partie du récipient de culture, l'un débouchant au fond, l'autre à l'extrémité supérieure du récipient.

ROUX (38), HEIM (61) et V. HIBLER (39) se sont servis d'un appareil construit selon les mêmes directives.

Ces méthodes présentent quelques inconvénients. Elles ne peuvent servir que pour des milieux liquides ; il est très délicat d'examiner les mêmes cultures à des moments différents, parce qu'il est difficile de refermer le récipient une fois qu'il a été ouvert.

HESSE (42) a tourné la difficulté. Il a renversé ses tubes sur du mercure et après il a introduit de l'hydrogène à la surface du milieu de culture à travers le mercure et au moyen d'un tube courbé.

BOTKIN (62), BLUCHER (63), pour faire des cultures en plaques, ont renversé les boîtes sur du mercure ou de la paraffine ; un des tubes adducteurs permet d'y amener l'hydrogène à travers le produit qui ferme, un autre permet à l'oxygène de partir.

GABRITSCHEWSKY (64), KAMEN (65), NOVY (66), se sont servis d'appareils analogues. L'appareil d'AREN (67) est tout semblable.

C'est presque exclusivement l'hydrogène bien lavé et purifié qui est employé comme gaz inerte. V. HIBLER (39) et KITASATO (68) remarquent l'action nocive de l'acide carbonique ; C. FRENKEL (46) et NOVY (66) celle du gaz d'éclairage.

Troisième genre : Fixation de l'oxygène contenu dans le récipient de la culture par un corps chimique.

Différents corps réducteurs minéraux ou organiques ont servis à cette fixation.

ARLOING, CORNEVI et THOMAS (69) se sont servis du sulfate ferreux. TRENCKMANN (70) et MANTEUFEL (71) de sulfite de soude ; HAMMERL (72) et RIVAS (73) de sulfhydrate d'ammoniac ; LIFMANN (74) de sulfate double de fer et d'ammonium Ils ont simplement ajouté ces réducteurs aux milieu de culture.

D'ailleurs HAMMERL, de même que RIVAS ont considéré eux-mêmes ces méthodes comme insuffisantes et ils ont séparé leurs cultures de l'atmosphère à l'aide d'une huile. MANTEUFEL lui aussi a mis sur sa culture une couche de vaseline. WRZOSEK (75) et HATA (76) ont ajouté à leurs milieux de culture du fer et du zinc métallique. PFUHL (77) s'est servi de la mousse de platine, utilisant ainsi la propriété physique qu'à ce corps d'absorber les gaz, WUERCKER (50) trouve l'absorbtion d'oxygène par le

charbon animal insuffisante, mais il a de meilleurs résultats avec le cock.

En ce moment ces métodes sont peu appréciées et FROMME (78), MESSERSCHMIDT (79) et SUPFLE (80) et d'autres encore ont prouvé l'action peu favorable exercée par ces substances sur la croissance des microorganismes.

D'autres auteurs ont préconisé, pour la culture en anaérobiose, de mélanger aux milieux de culture des organes frais d'animaux. Ainsi TIZZONI, CATTANI et BAQUIS (81), LECLAINCHE et VALLEE (82) se sont servis de sang frais; Th. SMITH (83), KITT (84), SCHATTENFROH et GRASSBERGER (85), TAROZZI 86), V. HIBLER (39), de muscles frais, de cervelles broyées et stérilisées; HARRAS 87) WUERKER (50), HEIM (51) de morceaux de foie stérilisés. Ces méthodes sont encore utilisées à notre époque et on se sert surtout de sang, de cervelles broyées, de bouillon de foie et de lait avec des petits morceaux de foie. Cependant il y a de nombreuses critiques. CONRADI (88) fait remarquer, que la viande fraîche, même receuillie aseptiquement, contient une certaine quantité de microbes. BUGGE et KISSIG (89) ont fait les mêmes réflexions; il semble donc peu recommandable d'ajouter comme réducteurs des viandes fraiches. D'autre part TAROZZI (86) prévient contre les inconvénients des morceaux de foie stérélisés. GATES et OLITZKY (56) ont trouvé le tissu rénal plus réducteur à l'état frais que boulli. HATA (76) aussi dit que le pouvoir réducteur du foie est diminué par la cuisson. Mieux vaut donc n'employer ni des organes frais, ni des organes bouillis.

Mentionnons aussi les essais faits par NICOLAIER (90), KITASATO (68) en cultivant ensemble des anaérobies et des aérobies, ces derniers devant absorber l'oxygène et permettre la croissance des premiers. Les résultats ont été peu probants.

Enfin arrivons à une méthode employée, ces temps derniers, et dont beaucoup d'auteurs se sont servis. C'est l'emploi de pyrogallate alcalin comme réducteur. C'est BUECHNER (91) qui a introduit ce réducteur supérieur à tous les autres. Il s'est servi de deux tubes de grandeur différente, a introduit le plus petit, dans lequel il a fait une culture, dans le plus grand et a mis dans le grand du pyragallol et de la lessive de soude; puis il a bouché hermétiquement l'appareil. OMELIANSKI (92) a utilisé une méthode semblable. KUERSTEINER (93) introduit un bouchon de coton, imbibé de solution alcaline pyrogallique, dans le tube, puis le ferme avec un bouchon de caoutchouc. KOLLATH et QUAST (94)

se servent de deux tubes reliés ensembles ; dans l'un se trouve la culture, dans l'autre du pyrogallol et de la lessive de soude. Pour faire des cultures sur milieu solide en boîte de PETRI, LENTZ (95) renverse le fond d'une boîte de PETRI sur une plaque de verre, sur laquelle il y a une couche de plastiline, permettant une bonne fermeture. Sur la plastiline est aussi fixé un petit récipient contenant la solution de pyrogallate alcalin. KNORR (96), WILSON (97), HENRY(98) ont repris la méthode de LENTZ avec de légères modifications.

Toutes ces méthodes présentent quelques inconvénients. Il faut en effet une fermeture, parfois assez délicate, pour chaque tube ou chaque boîte de PETRI, ce qui rend des cultures en séries assez compliquées. D'autres part, dans plusieurs de ces méthodes, la solution alcaline, située trop près du milieu de culture, peut nuire à la croissance.

Pour permettre des cultures en série, ARENS (99) a recommandé de mettre des tubes ou des boîtes de PETRI dans un déssicateur contenant du pyrogallate alcalin.

PICK et POLLACZEK (100) sont arrivés, grâce à une pipette, construite dans l'appareil, à permettre la réunion du pyrogallate et de la lessive de soude, seulement après la fermeture du récipient. Ces méthodes permettent évidemment la culture simultanée dans plusieurs tubes ou boîtes de PETRI, mais il faut une quantité énorme de pyrogallol et de solution alcaline, puisque le pyrogallate doit absorber tout l'air contenu dans l'appareil.

Aussi a-t-on pensé à enlever d'abord la plus grande partie de l'air contenu dans le récipient et à faire agir après seulement la solution de pyrogallate alcalin. BLUCHER (63), SCHATTENFROH et GRASSBERGER (85), FOTH (101) ont combiné l'introduction d'hydrogène avec la méthode au pyrogallol. MAC INTOSCH et FILDES (102) de même que BROWN (103) ont enlevé l'oxygène avec de l'hydrogène puis ont fait brûler la plus grande quantité de l'oxygène restant avec différents corps, et après seulement ont enlevé les dernières traces d'oxygène avec la solution pyrogallique.

Enfin en ce moment est répandue une méthode résultant de la combinaison de la pompe à vide avec la méthode de pyrogallol. KLEIN (104) place ses cultures sous une cloche à vide fixée par une jointure hermétique sur une plaque de verre. Il y met aussi un tube en U fermé d'un côté et contenant de la lessive de soude.

Sur la plaque de verre il répand de l'acide pyrogallique. En enlevant l'air par une pompe à vide, la lessive de soude

monte dans le tube, déborde et se répand sur l'acide pyrogallique.

EMMERLING (105) et BORDET (106) ont construit des appareils analogues. BREKENFELD (107) conseille des verre Weck. KIRCHNER (108) préconise pour la fermeture deux anneaux en caoutchouc à la place de la graisse ou de la cire.

Notre appareil est une combinaison de ces diverses méthodes. Nous en donnerons la description plus loin et nous croyons qu'avec lui on peut obtenir un vide extrêmement poussé.

Chapitre II

Les champignons isolés et décrits précédemment utilisés par nous

Nous donnons ci-dessous la description des champignons suivantes:

1° Mucor spinosus VAN TIEGHEM.

2° Aspergillus fumigatus var, cellulosae.

3° Eurotium diplocyste.

Mucor spinosus VAN TIEGHEM:

„L'étude morpholique a été pratiquée sur des cultures en gouttes pendantes sur milieu de RAULIN acide; elle nous a donné les caractères suivants: mycelium non cloisonné constitué par des filaments incolores et lisses. Ces filaments se ramifient en cymes sympodiaux ou en grappes monopodiales, chaque ramification secondaire donne naissance à une hyphe fructifère qui, à la base, est séparée de l'axe principal par une cloison ne se prolongeant pas sur cet axe, caractère mettant nettement à l'évidence la famille des Oomycètes; les filaments fructifères se renflent souvent près de leur extrémités, puis se retrécissent à la base de la columelle; à l'extrémité supérieure, ces hyphes se terminent par un appareil fructifère qui peut prendre deux formes. Les unes, les plus nombreuses, sont constituées par des sporanges sphériques, assez volumineux; à l'état jeune ils sont incolores; à la maturité, ils prennent une coloration allant du brun foncé au noir opaque La membrane est finement hérissée de pointes cristallines, disparaissant par l'action des acides dilués; cette membrane se dissous à maturité; la desagrégation commence à la base et à une certaine distance de l'hyphe fructifère, laissant une collerette qui sépare cet hyphe de la collumelle. Celle-ci est incolore, très caractéristique; elle affecte une forme cylindrique ou piriforme; elle est douée d'une grande résistance; munie de protubérances qui l'entourent complètement, mais sont d'avantage visibles à la partie supérieure; elles sont de taille irrégulière, pointues ou plates, droites ou courbées, souvent noduleuses, leur nombre est très variable; dans beaucoup de cas on rencontre des columelles munies d'une seule protubérance allongée donnant à l'ensemble l'aspect

d'un bonnet pointu ou d'un as de pique. Ce sont ces caractéristiques qui nous ont déterminé à penser que nous avions affaire au *mucor aspergilloides* ZOPF (1880) que nous préférons appeler *mucor spinosus*, nous rapportant à l'ancienneté des recherches de VAN TIEGHEM, qui isola cet organisme et le décrivit dans une note parue au *Annales des Sciences naturelles* en 1876. La deuxième forme d'appareils reproducteurs que nous avons pu observer était plus petite; elle avait déjà été vue par VUILLEMIN et désignée par cet auteur sous le terme de *sporangiole;* dans ce cas la columelle est très réduite, se présentant comme un petit bouton lisse et les sporanges correspondants ne renferment qu'un nombre très reduit de spores, un peu plus grand que dans la normale.

Les spores normales sont sphériques ou subréniformes, à membrane lisse et présentant une coloration brunâtre; leurs dimensions varient très peu. On trouvera dans le tableau ci-contre les dimensions des différents éléments dont nous venons de parler:

Mycelium:	épaisseur de 5 à 12 μ.
Hyphes fructifères:	longueur jusqu'à 1 centimètre; largeur à leurs extrémités supérieures de 3 à 5 μ.
Sporanges:	diamètre de 20 à 32 μ.
Sporangioles:	diamètre de 12 à 15 μ.
Columelle:	longueur de 15 à 25 μ; largeur de 10 à 15 μ.
Protubérance de la columelle:	longueur de 2 à 5 μ; épaisseur de 0,4 à 2 μ.
Spores:	diamètre de 5 à 9 μ, rarement jusqu'à 10 μ.
Distance, sur les ramaux primaires, de la collerette du sporange jusqu'à l'aisselle du rameau secondaire:	de 17 à 24 μ.

Caractères morphologiques sur les différents milieux:

MILIEUX LIQUIDES:

Milieu de RAULIN glucosé: L'évolution de l'organisme commence à être appréciable au bout de 12 heures à la température de + 23°. La sporulation est accélérée; le dépôt constitué

par des formes levures et quantitativement beaucoup plus important et le bourgeonnement plus actif; à partir de la deuxième journée on voit des bulles de gaz se dégageant dans le milieu, phénomène, qui, après être passé par un maximum, cesse bientôt; à ce moment le dépôt n'augmente plus sensiblement dans le récipient de culture; les formes levures prennent une vie ralentie et le protoplasme de ces cellules s'epaissit et jaunit.

MILIEUX SOLIDES :

Milieu de SABOURAUD glucosé. Le mycelium envahit le milieu dans les 24 ou 48 heures; le tapis épais se couvre immédiatement d'hyphes fructifères lui donnant un aspect gris coeruléeux; les hyphes prennent une hauteur remarquable dépassant même un centimètre, l'aspect microscopique de la culture nous montre des filaments robustes à ramifications sympodiales et dont l'axe primaire ne porte aucune cloison, sauf dans certains cas à l'extrémité supérieure à une faible distance du sporange terminal. Les sporanges sont très volumineux à parois épaisses et renfermant de nombreuses spores qui, à la mise en liberté, restent agglomérées en amas globuleux, caractéristiques.

Milieu de SABOURAUD maltosé: Milieu extrèmement favorable donnant des cultures très luxuriantes. Les caractères microscopiques sont les mêmes que pour le milieu précédent.

Milieu de pomme de terre: Le départ de la culture sur ce milieu est retardé de un à deux jours en comparaison du milieu de SABOURAUD; la fructification est aussi plus tardive mais ici aussi les hyphes fructifères sont très robustes et très longues.

Maltose : Dans le milieu contenant du maltose, la recherche du glucose après intervertion par hydrolyse artificielle a montré que le champignon a digéré une grande partie du maltose, mais en essayant de caractériser les monosaccharides directement dans le milieu sans opérer l'interversion nous n'avons pas pu mettre en évidence des produits de dégradation.

Lactose: En aucun cas nous n'avons pu constater dans nos milieux lactosés une assimilation ou une interversion. Le lactose doit être considéré comme un très mauvais aliment.

Glucose: L'organisme se développe au bout de 24 heures formant un voile à la surface du milieu, voile sur lequel au

bout de 48 heures la formation des appareils sporifères est constatable par la coloration gris noirâtre; 24 jours après l'ensemencement, la fermentation est terminée.

Lait: Sur le lait, au bout de 48 heures, l'organisme forme un voile épais à la surface du milieu; le quatrième jour la coagulation est complète; en laissant cultiver les champignons jusqu'au trentième jour, nous n'avons pu observer la dissolution de la caséine.

Peptones: La culture a évolué très vite donnant au bout de 48 heures des appareils reproducteurs.

Aspergillus fumigatus var. cellulosae:

L'isolement de ce parasite a été obtenu par le procédé suivant:

On prépare un milieu nutritif de composition:

Sulfate d'amoniaque	2 gr.
Phosphate monopotassique	1 gr.
Sulfate de magnésie	1 gr.
Chlorure de sodium	2 gr.
Eau distillée	1000 cc.

Dans cette solution stérilisée dans une boîte de BORREL ou dans une boîte de Petri suivant les espèces, on plonge une bande rectangulaire ou ronde du papier parasité.

Déjà après 24 à 48 heures on observe pour l'*aspergillus* en question l'apparition d'un tapis blanc intimement fixé sur la bande de papier. La partie supérieure de celle-ci dépassant la solution nutritive se couvre bientôt avec un mycelium riche d'une teinte verdâtre qui passe ensuite au gris bleuâtre. A la surface de la solution le papier devient de plus en plus mince et transparent, il se décompose lentement et bientôt la bande de papier perd sa rigidité et en se pliant et se désagrégeant elle s'enfonce dans le milieu nutritif. Ce phénomène se passe plus vite si on dispose le vase de culture dans une étuve d'ADNET, dans une atmosphère raréfiée en oxygène.

Caractères culturaux: Le milieu de choix pour notre organisme est celui de SABOURAUD gélosé maltosé; le voile mycélien est, à l'état jeune, vert; il passe ensuite au vert bleuâtre et finalement il présente une coloration gris bleuâtre fumé. La croissance commence à partir de la 6e à 8e heure par l'apparition de petites colonies pulvérulantes;

les hyphes sont d'abord hyalins, puis deviennent jaunes brunâtres ; les dimensions sont comprises entre 2 et 3 μ dans la largeur et peuvent atteindre jusqu'à 1000 μ dans la longueur ; les hyphes conidiophores sont droites, dressées, non ramifiées et présentent à la partie terminale une ampoule renflée en massue (longueur 23 à 30 μ, largeur 20 à 27 μ). Les stérigmates atteignent 6 à 10 μ ; ils sont courbés, non ramifiés et insérés sur la moitié supérieure de l'ampoule, ils portent de longues chainettes de conidies ovalaires au début et s'arrondissent en murissant.

L'optimum cultural sur ce milieu est situé à + 27°.

Sur moût de bière gélosé (pH=6,9) culture rapide et abondante. Le tapis mycélien reste longtemps blanc et la sporulation est retardée.

Sur milieu de peptone gelatiné (pH=7,4) culture faible, blanchâtre. La gelatine est liquéfiée après trois à cinq jours de culture à + 18°.

Sur pomme de terre, culture luxuriante avec sporulation précoce. Le milieu prend un aspect noirâtre fumé aprés 5 jours.

Sur bouillon ordinaire (pH=7,8) voile superficiel mince, blanchâtre et sec. Le milieu se trouble légèrement après 10 à 12 jours de culture.

Sur le lait écrémé voile superficiel avec sporulation apparaissant du cinquième au huitième jour. Le lait devient alors alcalin avec peptonisation.

Le milieu gélosé au *rouge neutre* est réduit après 4 jours de culture à + 37°.

Assimilation des sucres :

Les recherches ont été effectuées au moyen du liquide de RAULIN neutre, dépourvu d'hydrates de carbone, stérilisé. Pour chaque sucre envisagé on introduit avec toutes les précautions d'asepsie le produit au moment de l'emploi ; les résultats sont exprimés dans le tableau qui suit :

Saccharose :	+++	Pas de gaz
Glucose :	+++	Pas de gaz
Maltose :	++++	Pas de gaz
Lactose :	++	Pas de gaz
Lévulose :	+	Pas de gaz

L'organisme se développe cependant d'une façon satisfaisante sur tous ces milieux.

Sur milieu cellulosé, par repiquages succesifs, le temps de désagrégation du papier devient de plus en plus court.

La désagrégation du papier s'effectue pour la deuxième génération le 14e jour, pour la cinquième, le 8e jour, pour la dixième, le 6e jour.

D'après les caractères culturaux et biologiques d'une part, l'aspect morphologique de l'autre, cette espèce rentre dans le genre *aspergillus*. L'ampoule conidiphore, la forme et l'insertion des stérigmates et la réaction de la matière colorante des conidies permettent de la ranger dans le stirpe *fumigatus* (CONSTANTIN et LUCET) (109), d'après la classification de BLOCHWITZ (110): *Aglobosi* (quatrième sous-genre). Il se différencie de l'*Aspergillus malignus* par l'absence de périthèce, de l'*Aspergillus conicus et penicilloides* par la forme en massue de l'ampoule conidiophore et les dimensions des différents éléments.

La distinction entre l'*Aspergillus fumigatus* FRESINIUS (111) d'un côté, l'*Aspergillus cellulosae* HOPFFE (112) et le nôtre et exprimé dans le tableau que nous donnons ci dessous:

	Asp. fum. Fres.	Asp. cel. Hopf.	Aspergillus expérimenté
Ampoule	10 à 20 × 30 à 40 μ	4 à 6 × 7 à 11 μ	23 à 30 × 20 à 27 μ
Stérigmates	6 à 15 × 1 à 4 μ	3 à 4,5 × 2 μ	6 à 10 × 2 à 3 μ
Pouvoir cellulophage	Néant	++	+
Anaérobie	Néant	facultatif	facultatif
Optimum cultural	+ 37°	+ 35° à 37°	+ 27°

Vu ces caractères différentiels très peu prononcés entre ces trois types il ne nous semble pas utile de créer une espèce nouvelle et nous proposons pour notre organisme la désignation d'*Aspergillus fumigatus* var. *cellulosae*.

Eurotium diplocyste:

Ici nous donnons à dessin l'aspect morphologique du champignon observé dans l'onychonycose où il a été trouvé

avant de donner l'étude systématique faite par A. et R. SARTORY et J. MEYER (5), parceque nous trouvons intéressant de comparer ces formes à celles observées en anaérobie.

Examen microscopique des ongles: Des débris d'ongles, coupés soigneusement avec des ciseaux ou détachés par raclage à la lime et traités par la solution de potasse caustique à 40 % se montrent infiltrés presque uniformement par un feutrage de filaments mycéliens larges de 1,25 à 3 μ, cloisonnés. En d'autres points on trouve une accumulation de formes de souffrance (Chlamydospores) parfois terminales parfois intercalaires ayant de 3,75 à 5 μ de diamètre. Enfin certains filaments principaux émettent des ramifications assez nombreuses, mais qui restent courtes, un peu comparables aux formes pectinées des *trichophyton.*

Cultures: Dans le présent cas la culture tentée dix fois a toujours donné à l'état de pureté ou associées avec quelques staphylocoques des colonies tout à fait typiques, qui commencent à se montrer 10 jours après l'ensemencement.

Etude morphologique sur milieu de SABOUROUD *maltosé à* + 27°. Le mycélium est ténu, d'abord franchement blanc; sur ce thalle blanc apparaissent à un certain moment des appareils reproducteurs de couleur vert tendre ; quelques jours après (deux jours), certains points de la culture prennent une teinte jaune canari qui se fonce un peu avec le temps ; nous soupçonnons alors l'apparition des périthèces ; c'est ce que nous confirme l'examen microscopique.

Description de l'appareil conidien: L'examen microscopique de la culture sur ce milieu nous a donné les caractères suivants: hyphes conidiophores dressées de 3,10 à 3,70 μ d'épaisseur sur 50 à 100 μ de long ; la membrane est épaissie, hyaline: les hyphes se renflent pour donner des ampoules sphériques ou claviformes qui présentent une cloison à la base, elles sont couvertes sur une partie seulement de basides claviformes, rayonnanntes, mesurant normalement 5 à 6,25 μ sur 1,25 à 2,5 μ. Ces basides qui prennent le plus souvent une évolution exagérée en longueur surtout, se renflent à leur extrémité en goupillons qui sont couronnés chacun de 4 stérigmates portant des conidies. Les basides ne sont jamais cloisonnées. Les conidies sont échinulées, globuleuses ; leurs dimensions sont variables de 2,25 à 3 μ sur 2,75 à 3,10 μ ; la forme élliptique parait dominer ; la couleur d'un vert tendre au début passe au vert franc, puis au vert cendré, dans les

cultures âgées ; elle sont réunies en chapelet, présentant entre elles des sortes de traits d'union (Disjunctor).

Dans certains cas l'ampoule primaire se cloisonne à la base; sur cette ampoule parait s'ébaucher la formation de basides géantes; certaines évoluent d'une manière normale, donnant des stérigmates fertiles; des autres basides en formation se prolongent en un filament stéril cloisonné et rien de plus. Nous avons vu se produire ce phénomène qui s'est généralisé à la surface entière de l'ampoule, donnant à la figure l'aspect d'un fouet.

Dans la région jaune canari on a pu constater la présence de nombreux périthèces ; nous avons assisté à leur formation. On a donc affaire ici à une forme Eurotium.

Périthèces : Les périthèces sont de couleur jaune canari; les uns sont sphériques les autres ovoïdes. Les dimensions sont les suivantes de 43 à 50 μ sur 50 à 55 μ. Leur formation débute par des enroulements typiques de certains filaments. Nous apercevons fort bien les asques et les ascospores qui sont au nombre de 8 dans chaque asque. Les asques mesurent de 4 à 6 μ sur 5 à 7,5 μ. A la maturité ces périthèces se composent d'une envelope cellulaire membraneuse, d'un jaune canari, renfermant un nombre plus ou moins considérable d'asques sphériques incolores; ceux-ci renferment 8 ascospores. Elles ont une forme lenticulaire et non sphérique, paraissent rondes vues de face, mais de profil prennent nettement la forme ovale avec un petit sillon creux bordé de chaque côté par une petite crête saillante autour du plus grand diamètre qui mesure de 2,5 à 3,10 μ, tandis que le petit diamètre mesure de 1,35 à 1,5 μ.

Caractères culturaux :

Optimum cultural : La recherche de l'optimum cultural a été effectuée sur milieu de SABOURAUD maltosé; cet optimum est situé à 25°.

L'Eurotium se trouvait en végétation sur les milieux suivants: RAULIN gélatiné et gélosé, carotte, pomme de terre, pomme de terre glycérinée, milieu de SABOURAUD maltosé, gélose, amidon de riz à 2 %, sérum coagulé, blanc d'œuf, en ce qui concerne les milieux solides; pour les milieux liquides: milieu de RAULIN normal, neutre, glucosé, bouillon peptoglycériné, lait et sérum liquide.

Pomme de terre: A la température de + 27° dès le deuxième jour début de végétation, filaments blanchâtres, peu épais. Le quatrième jour nous voyons apparaitre sur ce thalle blanc des appareils reproducteurs de teinte vert jaunâtre; le cinquième jour le thalle est parsemé, surtout à la partie inférieure de la culture d'une zône jaune canari; c'est l'apparition de la formation d'enroulements, prélude de périthèces, ainsi que nous pouvons nous en rendre compte par l'examen microscophique. Un peut plus tard, vers le 7e et 8e jour, les parties jaunes augmentent et toute une portion de la culture est jaune surtout à la périphérie et au centre; les appareils conidiens disparaissent sous ce feutrage jaune pour laisser place aux périthèces. La presque totalité du substratum est envahie au bout de 12 jours.

Raulin normal gelatiné: C'est un milieu excellent. Dès le troisième jour apparition des appareils conidiens à la température de + 27°. Le cinquième jour la teinte verte s'accentue; on ne constate pas de liquéfaction. Puis la teinte jaune apparait; les perithèces sont nombreux, mais jusqu'ici les appareils conidiens prédominent. Le dixième jour les appareils conidiens prennent la teinte vert ou vert cendré surtout dans les parties supérieures. Il semble que ce milieu est favorable aux appareils conidiens, car il y a toujours prédominance de ces derniers. La liquéfaction débute au bout de 8 jours et continue les jours suivants.

Gélose: Ce milieu convient parfaitement à la culture de ce champignon; les appareils conidiens sont très nombreux à partir du troisième jour; ils sont verts clair puis verts foncé.. A partir du cinquième jour nous apercevons quelques plages jaunes canari surtout à la périphérie de la culture; les appareils conidiens restent au centre, mais bientôt après une dizaine de jours la teinte jaune devient de plus en plus intense, couvre presque totalement la partie conidienne formant un givre jaune sur la partie verte, ce qui donne un aspect particulier à la culture, les zones inférieures sont tout à fait jaunes. En vieillissant les cultures prennent la teinte jaune sale. Jamais ces cultures n'ont présenté des formes tourmentées, plissements cérébriformes, mais elles sont unies ou légèrement mammelonnées.

Raulin gélosé: Sur ce milieu, la culture est identique à la précédente.

Albumine d'œuf coagulé: Ce milieu est peu favorable; les appareils conidiens apparaissant seulement au bout de 9 jours;

les périthèces se forment, mais sont rares. L'albumine n'est pas modifiée, même après 40 jours. Les appareils conidiens sont abondants par rapports aux périthèces mais d'une façon générale la culture n'est nullement luxuriante.

Sérum coagulé: Mauvais milieu, plus encore que le précédent. Rien à signaler de plus.

Gelatine en stries: Excellent milieu semblable au milieu de *RAULIN* gelatiné.

Carotte: Ce végétal est un milieu de choix: dans les premières 24 heures la végétation apparait, le thalle est blanc uniforme; après 48 heures on peut constater la présence d'appareils conidiens vert tendre, puis vert frais et vert foncé puis cendré. Les périthèces font leur apparition avec la couleur jaune dès le cinquième jour Ils sont jaune canari puis d'un jaune tirant sur l'orangé. Le substratum est totalement couvert d'appareils reproducteurs sexués et asexués. Au bout d'un mois les appareils conidiens sont de couleur cendrée, les périthèces d'un jaune orangé sale. La culture ne végète plus beaucoup à cette âge; elle reste dans un état stationnaire. Ici encore la teinte jaune passe au jaune sale avec l'âge.

Pomme de terre glycérinée: La culture est également luxuriante, peut-être un peu plus que sur le milieu précédent. Dès le deuzième jour les appareils conidiens font prendre au milieu la couleur verte et au sixième jour la couleur jaune est devenue intense et les plages vertes sont plutôt les moins nombreuses. Les périthèces sont formés; le septième et le huitième jour les appareils sexués sont de plus en plus nombreux. Les appareils conidiens sont surtout situés à la partie supérieure.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

Chapitre Ier

Etude d'un champignon d'une mycose dentaire: Aspergillus gingivalis N. sp.

L'étude de cet organisme a été faite en même temps que par nous et au laboratoire de bactéorologie de la faculté de pharmacie de Strasbourg par Monsieur R. JOFFARD (113), qui l'a décrit récemment.

Le champignon en question a été isolé chez une femme âgée de 35 ans, présentant une assez douloureuse gingivite avec plaques ulcérées. Le prélèvement a été fait à ces lésions et dans toutes les conditions d'asepsie habituelles. L'échantillon qui a été mis à notre disposition était une culture du champignon sur milieu de Sabouraud maltosé.

Pour bien suivre le développement de notre champignon nous avons eu recours à des cultures en goutte pendante sur milieu de Raulin liquide acide et à 27°.

24 heures après l'ensemencement nous avons un mycélium à filaments cloisonnés; des ramifications s'ébauchent. Le 3ème jour nous assistons à une ramification intense et les filaments commencent à s'anastomoser Certaines hyphes se renflent à leur extrémité, forment une ampoule, en même temps qu'à ces endroits le protoplasme se condense et devient granuleux. Le 4ème au 5ème jour c'est un tapis épais de mycélium formé de filaments enchevêtrés, très ramifiés. Les premiers appareils conidiens sont formés à ce moment. Ce sont des hyphes longues, s'élargissant à leur extrémité pour former une ampoule pyriforme. Parfois les ampoules ne semblent pas provenir d'un élargissement progressif des hyphes et prennent alors une forme plus sphérique; cet appareil d'abord incolore devient vert cendré puis franchement vert. Les ampoules sont couvertes sur $^3/_4$ au moins, parfois sur toute leur surface de phialides non cloisonnées, qui sont ventrues à leur base, puis s'amincissent pour présenter à leur extrémité un renflement sphérique.

Les phialides supportent de longues chaines de conidies, rondes ou ovalaires, légèrement vertes. Après 5 à 6 jours nous avons pu voir de nombreux périthèces. Nous avons pu examiner leur formation; après le 3ème jour certains filaments s'enroulent en hélices; les filaments gardent leurs parois pendant le début de l'enroulement et les cloisons ne disparaissent que lorsque les spires sont nombreuses. Les filaments d'abord verts deviennent lentement jaunâtres pour être après quelque temps nettement jaunes. Les périthèces sont ronds ou ovoïdes, à dimensions irrégulières. Ils renferment un nombre variable d'asques sphériques, parfois à aspect semi-lunaire avec des parois échinulées. Les asques renferment 4 ascospores que nous avons bien pu observer sur des périthèces libérant asques et ascospores. Les ascospores semblent rondes, mais présentent dans la direction de leur plus grand diamètre un sillon profond les séparant en deux parties bien distinctes.

Dimensions des différents éléments

Filaments mycéliens		2	à	2,5	μ	
Hyphes longues de		100	à	150	μ	
larges de		5,5	μ	au pied		
de		8	à	10	μ	au sommet
Ampoules:		12	à	15	μ	de diamètre
Phialides:		1,5	à	2,5	μ	× 5 à 7 μ
Spores:		5	à	6	μ	de diamètre
Périthèces:		20	à	140	μ	" "
Asques:		10	à	12	μ	" "
Ascospores:		4	à	5	μ	" "

Propriétés biologiques

Optimum cultural: Pour déterminer l'optimum cultural de notre organisme nous nous sommes servis de milieu de Raulin acide. Nous avons pratiqué des ensemencements dans les tubes que nous avons placés à de différentes températures, situées entre + 22° et + 40°. Nous avons trouvé que la température la plus favorable était + 27°. Monsieur Joffard, dans des travaux plus précis et en pesant les quantités de mycélium donné aux différentes températures par le champignon, ensemencé sur des quantités identiques de milieu de Raulin, est arrivé à la même constatation.

Caractères culturaux:

Le champignon se trouve en végétation sur: liquide de Raulin normal, neutre, glucosé, lévulosé, galactosé, Raulin urée, maltosé, lactosé, bouillon pepto-glycériné, Sabouraud

glucosé et maltosé, bouillon ordinaire, jus de de pommes de terre simple et glycériné pour les milieux liquides; il pousse sur les milieux solides suivants: Raulin gelatiné et gelosé, pomme de terre, carottes, Sabouraud maltosé et glucosé, gélose.

Les cultures que nous décrirons ont été faites à la température de l'optimum cultural, c. à. d.; + 27°.

MILIEUX LIQUIDES:

Liquide de Raulin normal: Après 36 à 40 heures un voile commence à se former, il est mince, incolore, granuleux. Le 3ème jour, le voile s'est étendu à toute la surface et passe au vert terne; en même temps se forme un dépôt abondant floconneux. Le 6ème et le 7ème jour, au centre de la culture qui est vert-noirâtre maintenant, des plages punctiformes jaunes, ce sont les périthèces. Après le 8ème jour la culture ne change plus notablement.

Liquide de Raulin neutre: L'évolution sur ce milieu ne présente avec celle sur milieu de Raulin normal que la différence d'être plus lente.

Parmi les différents autres milieux liquides, ceux qui conviennent particulèrement bien à notre champignon sont: le liquide de Raulin glucosé, maltosé, lactosé, le milieu de Sabouraud glucosé et lactosé, le jus de pomme de terre simple et glycériné. Beaucoup moins bien conviennent le liquide de Raulin lévulosé, galactosé et le milieu de Raulin urée.

MILIEUX SOLIDES:

Milieu de Raulin normal gelosé en boîte de Petri: Ce milieu convient très bien à ce champignon. Après 3 jours une culture duveteuse s'étend sur le milieu et le 5ème jour la colonie prend la coloration verte caractéristique pour l'apparition des appareils conidiens. Le 7ème jour les pigmentations jaunes apparaissent et bientôt tout le milieu est jaune.

Milieu de Raulin gelatiné: Développement identique et aussi facile, mais un peu plus lent.

Pomme de terre: L'étude sur ce milieu a été faite à fond, parceque c'est sur le même milieu que nous avons étudié le champignon en anaérobiose. Le champignon pousse d'ailleurs bien sur pomme de terre et y forme tous ses éléments. Après

24 heures de nombreuses petites colonies blanchâtres se sont formées; ces colonies se soudent le 3ème jour et commencent à verdir après 4 jours, par suite de la formation d'appareils conidiens On constate une pigmentation brûne de la pomme de terre après le 7ème jour, et à l'eau contenue dans le réservoir du tube de Roux devient brune. Après 6 jours apparaissent au centre des colonies vertes des petites plages jaunâtres formées de périthèces.

Aspect microscopique du champignon sur ce milieu.

Le mycélium filamenteux de jeune culture sur pomme de terre est peu épais, très ramifié. Les hyphes sont à aspect hyalin et granuleux; sur culture âgée les hyphes présentent des cloisons loin de l'ampoule conidiophore; elles sont droites, dressées. Les ampoules conidiophores se forment par élargissement progressif des hyphes, ce qui leur donne un aspect de massue. Parfois elles sont sphériques. Elles sont couvertes sur toute leur surface de phialides à aspect ordinaire et qui supportent de longues chaines de conidies rondes et ovalaires. Les périthèces ont l'aspect normal, rond ou ovoïde et renferment différents asques à 4 ascospores.

Dimension des différents éléments sur pomme de terre:

Filaments mycéliens:	Largeur de	5	à	6,5	μ				
Hyphes:	Longueur	150	à	200	μ				
	Largueur	6	à	8	μ				
Ampoules conidiophores		8	à	10	μ	×	15	à 20	μ
Phialides		2	à	6	μ	×	1,5	à 2,5	μ
Conidies		4	à	5	μ				
Périthèces		30	à	105	μ				
Asques		5	à	13	μ	×	4	à 10	μ
Ascospores		2,5	à	3	μ	de diamètre			

Carottes: Même observations que sur pomme de terre.

Milieu de Sabouraud maltosé: Après deux jours développement abondant. Les appareils conidiens sont très nombreux déjà après 3 jours. Le 4ème jour apparaissent les périthèces et après 5 à 6 jours le milieu est totalement envahi de périthèces jaunes.

Milieu de Sabouraud gelosé et glucosé: Développement semblable au précédent, mais les périthèces apparaissent plus tard et il y a toujours prédominance d'appareils conidiens.

Propriétés biochimiques :

Action sur les matières sucrées. C'est le liquide de Raulin, auquel nous avons ajouté chaque fois le sucre à étudier, qui a servi à nos expériences. Les dosages ont été faits en comparaison avec des milieux témoins non ensemencés, et placés dans des conditions identiques que les milieux ensemencés. Nos recherches nous ont amenés à conclure que parmi les sucres c'est le maltose qui convient le mieux à notre champignon ; après lui viennent successivement le galactose, le glucose, le saccharose et en dernier le lactose et le levulose, très mauvais aliments.

Action sur le rouge neutre. Le rouge neutre n'est pas réduit.

Action sur le lait. Le lait n'est pas coagulé.

Action sur le sérum coagulé. Le sérum coagulé se présente comme très mauvais milieu et n'est pas liquéfié par notre champignon.

Gelatine: donne une culture riche, avec tous les appareils, mais n'est jamais liquéfiée.

Gélose: Même résultat.

Caractère du pigment.

Nous avons surtout étudié la solubilité du pigment vert dans l'alcool à différents degrés et dans les autres solvants ordinaires. Le pigment est très peu soluble dans les alcools à titre alcoolique faible, la glycérine ; il est très soluble dans les alcools à titre élevé, l'alcool-éther, l'éther, la benzine, le sulfure de carbone. La dissolution du pigment dans l'alcool donne la couleur 216 du Code des couleurs (114).

Expérimentation.

Pour nous rendre compte de l'action pathogène de l'Aspergillus gingivalis n. sp., nous avons préparé des émulsions de spores dans du sérum physiologique et nous en avons fait des inoculations sous-cutanées et des injections intrapéritonéales à des cobayes.

Voici nos résultats:

1. Inoculation sous-cutanée: Il se forme un abcès au point d'inoculation. Le pus de l'abcès, cultivé sur un milieu quelconque donne les cultures caractéristiques de l'Aspergillus gingivalis n. sp. L'abcès formé est le seul phénomène pathologique constatable dans ce cas.

2. Inoculation intrépéritonéale:

Le cobaye diminue pendant quelques jours de poids, devient nerveux, ne mange pas. Ensuite il redevient normal, reprend lentement son poids et ne présente plus aucun symptone pathologique.

L'Aspergillus gingivalis n. sp n'est d'après ces résultats que très faiblement virulant, mais il est cependant pathogène.

Chapitre II

Description de l'appareil à vide avec lequel nous avons travaillé

Avant de donner les résultats que nous avons obtenus en cultivant nos 4 champignons dans le vide, nous décrirons l'appareil qui nous a servi à assurer l'anaérobiose.

Notre appareil recourt au pyrogallate de potassium, avec un vide partiel établi au début au moyen d'une trompe à vide, agrandi et conservé grâce au pyrogallate. Nous avons utilisé un verre à conserve d'environ 25 cm. de hauteur et 15 cm. de diamètre. Nous y avons introduit un support en cuivre avec un plateau plat pouvant porter des boîtes de Petri et des tubes de culture. A ce support est fixée une éprouvette ouverte de 70 cm^3 environ et qu'on remplit au $^2/_3$ de lessive de potasse. L'éprouvette est munie d'un bouchon de caoutchouc avec un trou par lequel sort un tube en U. Une des branches du tube en U plonge dans la lessive de potasse et l'autre est en liberté à l'extérieur. Le bout de cette branche a été effilé au bec Bunsen. Un petit manomètre à mercure en forme d'U ayant 7 cm. de haut est fixé sur le support en cuivre. Dans le fond et au centre du verre à conserve est placé un petit verre à montre sur lequel on met de l'acide pyrogallique. Le support en cuivre contenant les tubes de culture ensemencés est placé dans le verre à conserve. On dispose deux anneaux en caoutchouc, qui sont collés ensemble, sur le bord du verre à conserve et on le ferme au moyen d'un couvercle en verre. Puis on enlève, à l'aide d'une aiguille à injection, fixée sur le tube en caoutchouc d'une trompe à eau, l'air contenu dans le vase Au début on appuie sur le couvercle. On fait ainsi un vide partiel, contrôlable à l'aide du manomètre. Dès que la pression est devenue très faible, on enlève l'aiguille d'un coup sec. Pendant que le vide se fait, la potasse monte dans le tube en U et sort par le bout effilé dans le fond du vase. Si beaucoup de potasse est sortie elle arrive à être en contact avec l'acide pyrogallique et il se forme du pyrogallate de potassium. L'oxygène restant dans l'appareil est ainsi absorbé et la pression diminue encore. Le vide obtenu reste constant pendant assez longtemps, parce que toute trace d'oxygène arrivant dans le vase est de nouveau absorbée par le pyrogallate de potassium.

Cet appareil nous permet donc d'avoir pendant des semaines un vide constant et régulier et convient parfaitement à notre travail.

Pour observer nos champignons dans un vide partiel nous nous sommes servi d'une cloche à vide munie d'un manomètre donnant un vide assez grand, peu durable, mais qui a suffi pour observer les formes intermédiaires entre celles données par nos champignons dans les conditions de pression normale et celles données dans le vide.

Toutes les cultures ont été faites à 27°. Les milieux que nous avons employés pour les 4 champignons sont:

1. La pomme de terre en tranches

2. Le milieu de Raulin liquide

3. Le milieu de Raulin gelosé.

Nous pensons qu'il est inutile de donner la composition et la préparation de ces milieux qui sont bien connus.

Chapitre III

Mucor spinosus V. TIEGHEM en anaerobiose

Pomme de terre :

Vide partiel (pression de 40 à 50 cm).

Aspect macroscopique :

Dans le vide partiel la *Mucor spinosus* se développe comme dans les conditions normales. Cependant le tapis mycélien n'apparait qu'après 6 à 7 jours c. à d. 3 à 4 jours plus tard que dans les conditions ordinaires. Le développement se fait un peu plus lentement et après 18 à 20 jours seulement la culture est aussi riche que sur le même milieu après 8 à 10 jours dans les conditions normales.

Aspect microscopique:

Les caractères microscopiques que nous donnons ont été observés après 20 jours de culture.

Mycélium : Abondant ; de même dimensions que dans les conditions normales. Il présente des cloisons assez espacées.

Sporanges : Ils ont surtout l'aspect de sporanges jeunes et sont moins abondants que dans une culture normale. Les protubérances des columelles sont peu prénoncées et nous n'avons pu en voir que quelques unes en forme de bonnet pointu ou d'as de pique.

Spores : Les spores ne se distinguent pas des spores ordinaires.

Pomme de terre :

Vide poussé, de 5 à 7 mm de mercure.

Aspect macroscopique:

Après 5 jours nous ne voyons aucune trace de culture, ni après 10 jours. Ce n'est que le 13ème jour que le champignon commence à pousser. Après 18 jours la culture commence à être bien visible ; elle est très fine, peu dense, mais s'étend sur toute la pomme de terre.

Aspect microscopique :

Mycélium : Il est légèrement plus large, a les parois plus épaisses et est cloisonné plus que dans le vide partiel. Le mycélium a un aspect levuriforme très net et quelques chlamydospores, à parois épaisses, se sont formées.

Hyphes : Les hyphes ont des ramifications cloisonnées. Chaqus hyphe présente une cloison au-dessous de la columelle.

Sporanges : Les sporanges sont peu nombreux, irréguliers, à parois épaissies. Ils sont légèrement hypertrophiés.

Columelles : Elles sont moins grandes, souvent à peine visibles.

Spores : Les spores sont un peu plus grandes et ont les parois plus épaisses.

L'absence presque totale de columelles nous a incité à croire que nous n'avons dans le vide que le forme *sporangiole.* Mais les sporanges en question n'ont pas l'aspect du sporangiole tel que l'a donné Vuillemin. Il n'est en effet pas plus petit que le sporange ordinaire et ne contient pas un nombre sensiblement inférieur de spores.

Le Mucor spinosus n'a pas formé de zygospores dans le vide.

Milieu de Raulin gélosé

Pression de 5 à 7 mm.

Aspect macroscopique :

Après trois jours déjà apparaissent de longs filaments mycéliens blancs et parmi eux se trouvent quelques sporanges de toute beauté. Puis la culture cesse brusquement de se développer ce n'est que le 10ème jour qu'elle recommence à pousser. Après 18 jours la culture occupe toute l'étendue du milieu. Mais tous les appareils formés après les 4 premiers jours sont moins développés et moins nets que ceux qui ont poussés pendant les 4 premiers jours.

Aspect microscopique ;

Mycélium : Le mycélium est irrégulier, cloisonné, épaissi et présente des formes rondes et en massue La columelle est très petite. Il y a une cloison au-dessous du sporange.

Sporanges : Il sont aggrandis et assez abondants.

Des chlamydospores intercalaires surtout et quelques unes terminales, à parois très épaissies se sont formées.

Dimensions des différents éléments :

A la pression atmosphérique après 6 jours sur Raulin gélosé	Dans le vide après 20 jours sur Raulin gélosé
Mycélium 6 à 10 μ	Mycélium trop irréglier pour permettre des mesures moyennes
Hyphes 4 à 6 μ d'épaisseur	Hyphes 8 à 10 μ d'épaisseur
Spores 4 à 8 μ de diamètre	Dépassent parfois 10 μ de diamètre
Sporanges 25 à 35 μ de diamètre	Jusqu'à 40 à 50 μ de diamètre
	Chlamydospores intercalaires 27 × 23 μ terminals 24 × 21 μ

Assimilation des matières sucrées :

Pour étudier l'influence du vide sur l'assimilation des matières sucrées, nous nous sommes servi du millieu de Raulin neutre liquide. Nous avons fait des cultures simultanées dans le vide et dans l'atmosphère, et nous en avons avons dosé le sucre après 6, 10 et 20 jours, en les comparant chaque fois avec un milieu témoin, non ensemencé. Pour le dosage des sucres nous nous sommes servi de la méthode de Bertrand, trop souvent décrite et trop connue, pour que nous jugions nécessaire d'en donner le procédé. Avant de faire les différents dosages, nous avons fait une interversion, nécessaire, puisque le milieu du Raulin contient du saccharose, non réducteur.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Conditions normales			Vide	
Temps	Milieu témoin	Milieu ensemencé	Milieu témoin	Milieu ensemencé
6 jours	55 °/₀₀	38,5 °/₀₀	55 °/₀₀	34,5 °/₀₀
10 jours	55 °/₀₀	20,5 °/₀₀	55 °/₀₀	11,7 °/₀₀
20 jours	55 °/₀₀	6,5 °/₀₀	55 °/₀₀	2,5 °/₀₀

Ce champignon assimile donc plus de sucre dans le vide qu'à la pression normale.

D'autre part en examinant les cultures du Mucor spinosus sur milieu de Raulin liquide on constate qu'il pousse plus facilement dans l'atmosphère que dans le vide. Il n'y a donc aucun rapport déterminé entre croissance et absorption du sucre.

En résumé le *Mucor spinosus* V. Tieghem présente dans le vide de nettes variations morphologiques, consistant dans l'apparition de formes de souffrances, tels que: accroissement des différents appareils, présence de chlamydospores. D'autre part les sporangioles manquent et les columelles sont très petites. Dans le vide l'absorption du sucre est plus importante que dans l'atmosphère.

Chapitre IV

Aspergillus fumigatus var. cellulosae en anaerobiose

Pomme de terre:

Vide partiel: pression 40 à 50 cm.

Aspect macroscopique:

Ce champignon lui aussi se développe dans ces conditions avec 3 à 4 jours pe retard. Après 10 jours nous avons une culture très luxuriante et la sporulation est très abondante. La tranche de pomme de terre est uniformément noire après 12 à 13 jours.

Aspect microscopique:

Mycélium: Il est abondant et de forme normale.

Appareils conidiens: Sans aucune différence avec les appareils conidiens dans les conditions normales.

Spores: Elles sont normales.

Pomme de terre:

Pression de 5 à 7 mm.

Aspect macroscopique:

Après 5 jours il n'y a pas de développement et après 10 jours il n'y a toujours rien. Le 12ème jour un léger duvet blanc s'est formé. Le 15ème jour la colonie prend des pigmentations noires, signe du commencement de la sporulation. Les endroits noirs deviennent de plus en plus grands et après 30 jours toute la pomme de terre est noire.

Aspect microscopique après 15 jours.

Mycélium : Il est sinueux, large, cloisonné assez souvent; il présente par endroit des cellules levuriformes.

Hyphes : Les hyphes conidiophores sont beaucoup moins nombreuses qu'après cinq jours de culture normale. Elles présensent un léger élargissement et leurs parois sont plus épaisses.

Ampoules conidiophores :

Les ampoules conidiophores sont peu nombreuses et beoucoup seulement en train de se former. Les ampoules déjà formées sont agrandies.

Stérigmates : Les stérigmates sont moins nombreux mais plus grands que dans les conditions normales.

Conidies : Les parois des conidies sont épaissies leurs dimensions ont à peine changées.

Sur beaucoup d'hyphes conidiophores on a pu observer une cloison à des distances variables de l'ampoule.

Mesures :

Aprés 6 jours sur pomme de terre à pression normale	Aprés 15 jours sur pomme de terre dans le vide
Mycélium 2,2 à 3,5 μ d'épaisseur	2,5 à 6 μ d'épaisseur
Hyphes 3 à 5 μ de largeur	6,5 à 11 μ de largeur
Ampoules conidioph. 10 à 15 μ x 25 à 28 μ de diamètre	25 à 30 μ × 25 à 36 μ de diamètre
Stérigmates 5 à 11 μ × 1 à 3 μ de diamètre	10 à 15 μ × 3 à 6 μ de diamètre
Spores 1,2 à 2,3 μ de diamètre	1,5 à 3 μ de diamètre

Après 40 jours de culture nous n'avons pas encore pu observer des périthèces.

Milieu de Raulin gélosé :

Pression de 5 à 7 mm.

Aspect macroscopique :

La culture commence à se développer après 15 jours seulement. Autour d'un point central pousse concentriquement un duvet blanc. Après 20 jours c'est l'apparition de nombreux points noire : c'est le début de la sporulation. Après 25 jours le milieu est uniformément noir.

Aspect microscopique :

Ne présente pas de différences avec l'aspect sur pomme de terre. Il ne nous a pas été donné de voir des périthèces.

Assimilation de matières sucrées.

Nous avons procédé comme pour le Mucor spinosus, c. à d. que nous avons fait des ensemencements sur milieu de Raulin normal en atmosphère ordinaire et dans le vide. Les dosages ont été faits après 6, 10 et 20 jours.

Voici le tableau qui résume les résultats :

Conditions normales			Vide	
Temps	Milieu témoin	Milieu ensemencé	Milieu témoin	Milieu ensemencé
6 jours	55 °/₀₀	6,5 °/₀₀	55 °/₀₀	52,2 °/₀₀
10 jours	55 °/₀₀	moins de 1 °/₀₀	55 °/₀₀	47,9 °/₀₀
20 jours	55 °/₀₀	traces	55 °/₀₀	12,5 °/₀₀

Ce champignon alors qu'il absorbe énormément de sucre dans les conditions normales, n'en absorbe presque pas dans le vide.

Sur milieu de Raulin liquide neutre la culture est à peu prés aussi abondante après 5 jours à 76 cm de pression, qu'après 20 à 22 jours dans le vide. Si nous examinons les résultats obtenus dans l'étude de l'assimilation des sucres

nous voyons qu'il n'y a aucun rapport fixe entre l'abondance de la culture et l'assimilation des sucres.

En résumé, l'Aspergillus fumigatus var. cellulosae subit de nettes modifications morphologiques dans le vide. Il présente des formes générales de souffrance. L'absorption de sucre est bien moins importante dans le vide que dans les conditions normales et il n'y a pas de rapport déterminé entre cette absorption et la croissance du champignon.

Chapitre V

Eurotium diplocyste en anaérobiose

Nous avoné étudié ce champignon comme les précédents succesivement sur pomme de terre en vide partiel puis à la pression de 5 à 7 mm et enfin sur milieu de Raulin gélosé.

Ensuite nous avons étudié son assimilation du sucre.

Pomme de terre:

Pression de 40 à 50 cm.

Aspect macroscopique:

Le début de la culture se fait avec un léger retard, à peine perceptible et pratiquement on peut dire que ce champignon se développe sur pomme de terre aussi bien à cette pression que dans les conditions normales; d'autre part tous ses éléments apparaissent, périthèces inclus. Après 15 jours la culture de l'Eurotium diplocyste est dans ces conditions identique à la culture de 12 à 13 jours à la pression de 76 cm.

Aspect microscopique :

Au microscope on distingue autant d'appareils conidiens et de périthèces dans une préparation faite avec une culture au vide partiel, que dans une préparation faite avec une culture normale. Les dimensions des différents éléments ne présentent aucun changement.

Pomme de terre:

Pression de 5 à 7 mm.

Aspect macroscopique:

Après 5 jours ce champignon commence déjà à se développer. Dans le vide il vit donc beaucoup mieux sur pomme de terre, c. à d. sur milieu amylacé, que les autres champignons déjà décrits. Après 10 jours un mince duvet blanc recouvre toute la pomme de terre et après 15 jours le mycélium a pris une certaine épaisseur. Après 20 jours nous n'avons toujours qu'une culture blanche; mais le 23ème jour apparaissent des régions jaunes et vertes à prithèces.

Aspect microscopique après 15 jours dans le vide:

Mycélium: Les filaments mycéliens sont nombreux, cloisonnés et légèrement hypertrophiés.

Hyphes conidiophores: Les hyphes sont cloisonnés 2 à 3 fois et à des distances variant de 20 à 100 μ du pied de l'ampoule conidiophore.

Appareils conidiens: Beaucoup se développent seulement. Mais ceux qui sont formés ne présentent pas de différence avec des appareils d'une culture normale. Cependant tous sont légèrement aggrandis dans le vide. Par endroits les filaments mycéliens émettent des ramifications semblables à celles que MM A. & R. SARTORY et M. J. MEYER ont pu observer dans les débris d'ongles, et dont nous avons donné la description. Ce sont des filaments semblables aux formes pectinées des *Trichophyton*. De plus la culture dans le vide donne quelques chlamydospores terminales et intercalaires. En général les formes observées se rapprochent beaucoup des formes présentées par le champignon dans l'ongle même, par son mycélium cloisonné, les ramifications courtes à formes pectinées et les chlamydospores.

Après 22 jours quelques périthèces sont formés et on peut en observer beaucoup qui sont en train de se former suivant le processus que nous avons déjà décrit.

Mesure des différents éléments:

A la pression atmosphérique après 5 jours sur pomme de terre	Dans le vide après 20 jours sur pomme de terre
Filaments mycéliens 1 à 2 μ de large	1,25 à 3 μ de large
Hyphes 3,1 à 3,7 μ de large	4,7 à 6 μ de large
Basides 1,5 à 2 μ × 4,5 à 5 μ	2,8 à 3,5 μ × 3,5 à 4 μ
Conidies 2,5 μ × 3,5 μ	3 μ × 4 μ
Périthèces 45 à 60 μ × 55 à 65 μ	43 à 57 μ × 50 à 60 μ

Milieu de Raulin gélosé:

Pression de 5 à 7 mm.

Aspect macroscopique:

Sur ce milieu le champignon ne commence à pousser qu'après 18 jours. Mais il ne pousse pas fort et la colonie

formée ne dépasse pas encore 1 cm de diamètre au bout de 35 jours.

Aspect microscopique:

L'observation microscopique ne nous donne que du mycélium très cloisonné, plus large que le mycélium ordinaire de ce champignon. Nous voyons aussi quelques ampoules conidiophores, légèrement aggrandies.

Assimiliation des matières sucrées:

Ici aussi les observations et les dosages ont été faits après 6, 10 et 20 jours de culture sur Raulin neutre liquide.

Voici les résultats:

Temps	Conditions normales		Vide	
	Milieu témoin	Milieu ensemencé	Milieu témoin	Milieu ensemencé
6 jours	55 °/₀₀	43,5 °/₀₀	55 °/₀₀	53,5 °/₀₀
10 jours	55 °/₀₀	28,6 °/₀₀	55 °/₀₀	45,3 °/₀₀
20 jours	55 °/₀₀	16,1 °/₀₀	55 °/₀₀	33,8 °/₀₀

Comme ce champignon, dans le vide pousse trés bien sur pomme de terre, et beaucoup moins bien sur milieu de Raulin gélosé ; comme d'autre par il n'y absorbe presque pas de sucre. nous avons été amené à étudier l'assimilation de l'amidon par l'*Eurotium diplocyste*, puisque l'amidon est la nourriture principale que lui fournit la pomme de terre.

A cet effet nous nous sommes servi du milieu de Raulin, dans lequel nous avons remplacé le saccharose par l'amidon, que nous avons ajouté aseptiquement après avoir préparé le milieu et après l'avoir stérilisé. Nous en avons fait des cultures dans le vide et dans les conditions normales.

Nous avons observé et analysé les milieux après 6, 10 et 20 jours de culture, comme pour l'étude de l'assimilation des sucres, et les dosages ont été faits suivant la méthode de Bertrand et après interversion.

Nous avons chaque fois dosé l'amidon :

1° dans un milieu témoin ;

2° dans un milieu ensemencé avec l'Eurotium diplocyste et placé dans les conditions atmosphériques normales ;

3° dans un milieu ensemencé avec l'Eurotium diplocyste et conservé dans notre appareil à vide.

Voici les résultats obtenus et exprimés en glucose:

	Conditions normales		Vide	
Temps	Milieu témoin	Milieu ensemencé	Milieu témoin	Milieu ensemencé
6 jours	52 °/₀₀	35 °/₀₀	52 °/₀₀	38,1 °/₀₀
10 jours	52 °/₀₀	28,1 °/₀₀	52 °/₀₀	29,6 °/₀₀
20 jours	52 °/₀₀	17,8 °/₀₀	52 °/₀₀	17,1 °/₀₀

Nous voyons que l'Eurotium diplocyste assimile l'amidon presque aussi bien dans le vide que dans les conditions normales.

D'autre part il assimile moins bien les sucres dans le vide qu'à la pression de 76 cm Il faut donc admettre que l'Eurotium diplocyste dégrade l'amidon suivant un processus peu commun.

En effet, nous allons voir, que cette forte disparition d'amidon, semble devoir être uniquement mise au compte d'une hydrolyse chimique.

Nous avons pu constater, que par l'action simultanée du vide et de la croissance du champignon, la concentration en ions H de notre milieu dissocié augmente sensiblement.

Ce changement de la concentration en ions H, qui d'ailleurs ne se produit pas en présence d'hexoses et de bioses, amenant une hydrolyse de l'amidon, est sans doute la cause de cette forte disparition de l'amidon.

Donc dans le vide l'Eurotium dyplociste prend des formes de souffrance ressemblant souvant aux formes qu'on a pu voir dans les débris d'ongles affectés d'une onychomycose provoquée par ce champignon. Il assimile moins de sucre et presque autant d'amidon dans le vide que dans les conditions atmosphériques normales et dégrade l'amidon par un processus spécial.

Chapitre VI

Aspergillus Gingivalis n. sp. en anaérobiose

L'étude de ce champignon dans le vide a aussi été faite succesivement sur pomme de terre et sur milieu de Raulin gélosé.

Pomme de terre:

Pression de 40 à 50 cm.

Aspect macroscopique:

Ce champignon aussi se développe dans ces conditions normalement, mais avec un léger retard. Après 5 jours de petites colonies blanches de mycélium apparaissent. Le 8ème jour elles commencent à verdir: c'est l'apparition des appareils conidiens; après 15 jours viennent les premiers points jaunes, les premiers périthèces. Le 22ème jour la culture est uniformément jaune.

Aspect microscopique:

Le mycélium est cloisonné et sinueux; les appareils conidiens sont très nombreux et la majorité de ces appareils est cloisonnée à 20 à 30 μ de la base de l'ampoule conidiophore. Les parois des hyphes et des ampoules sont légèrement épaissies. La taille des différents appareils n'a pas changée. Les périthèces sont nombreux et de forme ordinaire.

Pomme de terre:

Pression de 5 à 7 mm.

Aspect macroscopique:

La culture après 5 jours ne montre rien encore, mais le 10ème jour nous voyons des petites colonies blanchâtres se former; elles sont abondantes après 15 jours. Le 18ème jour apparait la coloration verte des appareils conidiens et après 24 jours la culture jaunit par endroits, signe de l'apparition de périthèces.

Aspect microscopique après 23 jours:

Mycélium: Le mycélium est moins large, plus irrégulier, cloisonné.

Hyphes: Les hyphes sont longues, cloisonnées. Leur largeur est très variable. Souvent elles sont cloisonnées à 30 à 40 μ de l'ampoule et une 2ème fois 20 à 30 μ plus bas. Souvent aussi les hyphes ont un aspect particulier; elles s'élargissent alors brusquement, puis se retrécissent à nouveau et forment alors l'ampoule conidiophore.

Ampoules conidiophores: Leur forme est normale. Leurs dimensions sont variables.

Phialides: Elles sont de grandeur normale, moins nombreuses, plus larges et trapues.

Conidies: Les conidies sont plus grandes et ont des parois plus épaisses.

Périthèces: On peut observer beaucoup de filaments aux enroulements caractéristiques donnant des périthèces, et quelques périthèces formés. Nous donnons maintenant un tableau montrant les différences dans les dimensions de l'Aspergillus gingivalis dans les conditions normales et dans le vide:

Conditions normales	Vide
Mycélium 2,5 à 5 μ	1,8 à 2,5 μ
Hyphes 6 à 8 μ	Souvent 4,5 à 7 μ de largeur à la base, puis élargissement brusque jusqu'à 18 à 20 μ, puis retrécissement jusqu'à 3 à 5 μ pour former brusquement l'ampoule.
Ampoules 8 à 10 μ × 15 à 20 μ	12 à 18 μ × 25 à 45 μ
Phialides 2 à 6 μ × 1,5 à 2,5 μ	3 à 7 μ × 3 à 4 μ
Conidies 3,5 μ de diamètre	4,5 μ de diamètre

Milieu de Raulin gélosé:

Pression de 5 à 7 mm.

Aspect macroscopique:

Après 18 jours l'Aspergillus gingivalis commence à pousser; bientôt la culture prend une couleur vert gris, signe de l'apparition des appareils asexués. Le 25ème jour le développement du champignon a atteint la grandeur d'une culture de 4 à 5 jours dans les conditions normales. Les appareils conidiens sont nombreux et les périthèces commencent à apparaître.

Aspect microscopique:

Les appareils conidiens présentent les mêmes retrécissements et élargissements succesifs que sur pomme de terre, dans le vide. Les dimensions sont à peu près identiques à celles de l'Aspergillus gingivalis sur pomme de terre dans le vide.

Absorption des matières sucrées:

Les ensemencements ont été faits sur milieu de Raulin et les dosages selon la méthode de Bertrand et comme pour les champignons précédemments décrits, après 6, 10 et 20 jours.

Voici les résultats:

	Conditions normales		Vide	
Temps	Milieu témoin	Milieu ensemencé	Milieu témoin	Milieu ensemencé
6 jours	55 ‰	34,5 ‰	55 ‰	53,5 ‰
10 jours	55 ‰	22,3 ‰	55 ‰	51,1 ‰
20 jours	55 ‰	12,5 ‰	55 ‰	43,8 ‰

Dans l'examen des caractères morphologiques nous avons vu qu'après 20 à 25 jours dans le vide nous avons une culture aussi abondante qu'après 4 à 5 jours dans les conditions normales. Si nous comparons l'assimilation des matières sucrées, nous voyons qu'après 4 à 5 jours à la pression

atmosphérique, le champignon a absorbé 40 % des matières sucrées, alors que dans le vide après 20 jours il n'y a que 20 % qui est assimilé.

Pour l'Aspergillus gingivalis n. sp. il n'y a donc, comme pour les champignons précédemment étudiés, pas de correspondance entre croissance et assimilation de matières sucrées.

Chapitre VII

Anaérobiose assurée par la vaseline et anaérobiose assurée par l'huile de paraffine

En 1932 Mme Lallamand (6), dans un rapport sur „L'étude de l'anaérobiose assurée par la vaseline et les huiles minérales", fait au bulletin de Pharmacologie, annonça que l'anaérobiose assurée par la vaseline était supérieure à celle assurée par les huiles minérales.

Voici les études faites par Mme Lallemand.

1° Etude sur l'évolution en fonction du temps, de la concentration en oxygène, d'une eau appauvrie en oxygène et recouverte par de la vaseline ou de l'huile de paraffine, et d'une eau identique au contact de l'air.

2° Etude du développement de quelques œufs (grenouilles, triton, axolotl) dans la vaseline et les huiles médicinales, et dans de l'eau recouverte d'un de ces corps. En faisant l'analyse chimique des différentes eaux et en suivant l'évolution des œufs dans ces différents milieux, Mme Lallemand est arrivée à la conclusion suivante :

a) L'huile de paraffine surraffinée n'est pas à considérer comme agent susceptible de maintenir une anaérobiose stricte.

b) L'huile de paraffine peu raffinée maintient l'anaérobiose pendant quelques heures.

c) La vaseline est très efficace et elle est très peu pénétrable à l'oxygène.

Nous avons pensé que ces différences de perméabilité à l'oxygène doivent donner pour les champignons des cultures différentes, suivant que l'anaérobiose est assurée par l'une ou l'autre de ces substances. Pour faire nos recherches nous nous sommes servis du Mucor spinosus V. Tieghem et de l'Aspergillus gingivalis. Nos cultures ont été faites sur liquide de Raulin normal, séparé de l'atmosphère par une couche d'huile de paraffine de 2 cm ou de vaseline de 1,5 à 2 cm.

Nous avons examiné nos cultures à différents stades.

I. *Cultures sous huile de paraffine.*

Le Mucor spinosus après 10 à 12 jours se met à pousser des filaments mycéliens blancs, au-dessous de la couche

d'huile de paraffine, et au centre. Il se développe progressivement vers la périphérie et bientôt nous avons un voile blanc uniforme. Après 15 jours un dépôt se forme au fond du tube et le voile de la couleur blanche passe à la couleur grise.

Le voile est formé des éléments normaux de Mucor spinosus. Ces éléments ne présentent que la particularité d'être plus grands et plus gros qu'à l'atmosphère et de comprendre dès le début de leur apparition beaucoup de chlamydospores.

L'Aspergillus gingivalis lui-aussi se développe très tôt sous l'huile de paraffine. Après 8 jours un mycélium verdâtre se forme; il devient de plus en plus foncé. Bientôt la culture prend la forme d'un bouchon entre le milieu de Raulin et l'huile de paraffine. Le 14ème jour la culture prend des pigmentations jaunes et les périthèces apparaissent. Au microscope les éléments de l'Aspergillus gingivalis présentent un peut les formes observées au vide, mais la différence entre la forme normale et la forme sous huile de paraffine est peu nette. Il n'y a que quelques hyphes présentant les étranglements et élargissements observés dans le vide; de même les hyphes présentent tout au plus une seule cloison, située de 40 à 50 μ de l'ampoule conidiophore. Les périthèces ont l'aspect normal.

II. *Cultures sous vaseline.*

En général le développement sous la vaseline est beaucoup plus lent pour les deux champignons. Le Mucor spinosus, après 18 jours seulement, c. à d. à peu près à la même époque que dans notre appareil à vide, forme de petits filaments blancs. Le 23ème jour nous avons un voile et un dépôt au fond du tube. Au microscope le mycélium est beaucoup plus cloisonné, les chlamydospores se forment plus tôt et en plus grande abondance.

Pour l'Aspergillus gingivalis les observations sont semblables. Après 11 à 12 jours nous avons une culture verte se développant lentement. Ce n'est qu'après 28 à 30 jours que nous pouvons observer des périthèces. Si nous examinons les appareils conidiens nous voyons que presque toutes les hyphes ont deux cloisons, ce qui prouve encore que le vide est plus complet avec la vaseline qu'avec l'huile de paraffine.

Ces quelques expériences montrent donc que, si on ne dispose pas d'un bon appareil à faire le vide, pour faire des cultures en anaérobiose, il vaut mieux recouvrir les cultures avec de la vaseline qu'avec de l'huile de paraffine.

CONCLUSIONS

Nos recherches ont été faites à l'aide de 4 organismes bien distincts morphologiquement :

Mucor spinosus Van TIEGHEM

Aspergillus fumigatus var. cellulosae BAEUMLI

Eurotium diplocyste A. et R. SARTORY et J. MEYER

Eurotium Gingivalis n. sp.

Nous avons ainsi disposé d'une Oomycète et de 3 Périsporiacées dont une n'ayant jamais donné de reproduction sexuée et les 2 autres produisant facilement les périthèces avec asques.

Ce matériel d'études pouvait donc nous permettre d'étudier facilement l'influence de l'anaérobiose et la croissance en atmosphère pauvre en oxygène sur la morphologie et la biologie des champignons inférieurs.

Au point de vue morphologique voici ce que nous avons pu constater avec A. et R. SARTORY (115).

Dans les conditions expérimentales dans lesquelles nous avons travaillé, l'anaérobiose stricte ou partielle n'a aucune influence pour l'apparition ou la suppresion des phénomènes sexués chez les Oomycètes et les Ascomycètes, le manque d'oxygène provoque un cloisonnement exagéré du thalle mycélien et des hyphes fructifières et en même temps apparaissent des formes levuriennes ou des chlamydospores.

L'atmosphère apauvrie ou dépourvue d'oxygène produit une hypertrophie générale de tous les organes de nos champignons même des spores et conidies généralement considérés comme éléments très stables Les champignons protègent leurs éléments de multiplication par une hypertrophie et la formation de membranes fortement épaissies.

Les 4 champignons mis à l'épreuve sont tous capables de vivre dans une atmosphère extrêmement pauvre en oxygène, ils forment tous les éléments de nutritition et de reproduction, l'amorçage des cultures est souvent sensiblement retardé.

Passons aux conclusions que nous pouvons formuler avec A. et R. SARTORY et J. MEYER (116) de nos recherches au point de vue biologique.

Le Mucor spinosus assimilie le saccharose d'une façon plus intense dans une atmosphère pauvre ou privée d'oxygène que dans l'air normal. D'autre part la croissance de ce

champignon est plus rapide et la récolte plus abondante dans les cultures aérobies que dans celles placées en anaérobiose.

Il n'y a donc aucun rapport direct entre la croissance du Mucor spinosus et l'assimilation du saccharose. D'ailleurs R. SARTORY (1) a déjà constaté que le Mucor spinosus produit en anaérobiose une augmentation notable dans l'hydrolyse et dans l'assimilation du saccharose et de l'amidon. Ceci pourrait peut-être en rapport avec les propriétés fermentatives du champignon qui peut utiliser une proportion de 3% d'alcool pour ses besoins énergiques (R. SARTORY) (1).

L'Aspergillus fumigatus var. cellulosae en expérience n'assimilie presque pas de sucre dans le vide, alors qu'il en consomme énormément dans l'atmosphère normale. Par contre dans les mêmes conditions culturales, la culture est aussi abondante après 5 jours à 76 cm de pression qu'après 20 jours dans le vide.

Ici aussi il n'y a donc aucun rapport direct entre l'abondance et la luxuriance de la culture et le métabolisme hydrocarboné.

L'Eurotium diplocyste formant facilement des appareils sexués en anaérobiose sur le milieu de Raulin saccharosé n'assimilie que faiblement le sucre.

Donc encore absence complète du rapport direct entre développement du champignon et absorption du sucre. Le champignon pousse très bien dans le vide sur pomme de terre, ce qui nous a amené à étudier son assimilation de l'amidon. En considérant nos résultats au tableau page 52 nous voyons que l'Eurotium diplocyste assimille l'amidon presqu'aussi bien dans le vide que dans l'atmosphère normale. D'autre part l'assimilation des sucres est moins forte dans le vide qu'à la pression de 76 cm, ceci nous a amené à admettre un processus spécial dans la dégradation de l'amidon par ce champignon.

Nous avons constaté que la concentration en ions H de notre milieu dissocié augmente sous l'influence du vide et de la croissance du champignon et il semble que la disparition forte de l'amidon s'explique par une hydrolyse purement chimique.

Nos recherches sur l'Aspergillus Gingivalis nous ont encore permis de constater l'absence de rapport défini entre abondance de la culture d'un champignon et assimilation des matières sucrées.

Enfin nous avons vu que la vaseline est beaucoup plus appropriée que l'huile de paraffine pour assurer un vide constant quand on ne dispose pas d'un bon appareil à vide.

BIBLIOGRAPHIE

(67.99) ARENS: Methode zur Plattenkultur der Anaeroben. *Zbl. f. Bakteriologie* 1894 I 16 p. 15

(69) ARLOING, CORNEVIN et THOMAS: Le charbon symptomatique du bœuf. *Asselin et Houzeau Paris* 1887

(3) BAEUMLI (H.-W.) Contribution à l'étude des parasites du papier. *Thèse Strasbourg* 1934 p. 46 à 49

(110) BLOCHWITZ: Die Aspergilaceen: System u. Phylogenie. *Ann. Mycol* vol XXVII 1929

(63) BLUCHER: Eine Methode zur Plattenkultur anaerober Bakterien. *Zschr. f. Hyg.* 1890 8 p. 409

(12.15) BONNIER et MANGIN: *Ann. Soc. Nat.* tome XV 1894 p. 217

(32) BOQUET (A.) et NEGRE (L.): *Annales de l'Institut Pasteur* 1919

(106) BORDET: 77 *Jahresversammlung der Brit. Med. Assoc.* Juli 1909

(62) BOTKIN (L): Eine einfache Methode zur Isolierung anaerober Bakterien. *Zsch. f. Hyg.* 1890, 8 p. 520

107 BRECKENFELD: 1.) Zur Technik der Anaerobenzüchtung I. Verwertung des Pyrogallol-Vacuumprincipes für Einzelplattenkultures. *Zbl. f. Bakt. Orig.* 1924, 91 p. 338. 2.) Zur Technik der Anaerobenzüchtung. III. Einmachgläser als Exsikkatoren zur Anaerobenzüchtung. *Zbl. f. Bakt.* 1924, 92 p. 129

(103) BROWN; HOWARD (J.) A study of anaerobic Bacterie *J. of Bact.* 1925, 10 p. 513

(91) BUCHNER: Eine neue Methode zur Kultur anaerober Mikroorganismen. *Zbl. f. Bakt.* 1888, 4 p. 149

(89) BUGGE et KISSIG: Untersuchungen über den Keimgehalt der Muskulatur und Organe steril getöteter Tiere. *Zsch. f. Fleischhyg.* 1911, 22 p. 69

(48) BURRI R.: Zur Isolierung der Anaeroben. *Zbl. f. Bakt.* 1902 II, 8 p. 534

(11) CHATTIN: Compt. rend. *tome* LVIII 1863, p. 553

(22.28) CHUDJAKOW (N.): Lehre der Anaérobiose. *Zbl. f. Bakt.* II 1898, 4 p. 389

(88) CONRADI: Ueber den Keimgehalt normaler Organe, *M. m. W.* 1909 N° 26

(109) CONSTANTIN & LUCET: v. A. Sartory Champignons parasites de l'homme et des animaux. *Le François* Paris 1923 p. 785

(30) DEUBELT: Beiträge zur Kenntnis eines Pigmentbildenden Penicilium. *Ann. Mycol.* 1909

(105) EMMERLING: Ein einfacher und zuverlässiger Anaerobenapparat. *Hyg. Rdsch.* 1904, 14 p. 452

(36) FEHRS & SACHS-MUCKE: Beitrag zur Züchtung und Isolierung von Anaeroben. *Zbl. f. Bakt.* 1909, 48 p. 122

(101) FOTH: Rauschbrand u. Rauschbrandschutzimpfungen *Zschr. f. Infect. Kr. der Haustiere* 1925 p. 205

(46) FRAENKEL (E): Ueber die Reinzüchtung der Krankheitserreger des malignen Oedems der infizierten Wunden. *Zbl. f. Bakt.* I 1918, 81 p. 31

(78) FROMME: Ueber die Beurteilung des Colibakterienbefundes im Trinkwasser. *Zsch. f. Hyg.* 1910 65 p. 251

(64) GABRITSCHEWSKY: Zur Technik der bakteriologischen Untersuchung. *Zbl. f. Bakt.* 1891, 10 p. 249

(41) GAFFKY: Experimentell erzeugte Septikämie mit Rücksicht auf progressive Virulenz und akkomotative Züchtung. *Mitt. a. Kais. Gesund. Amt* 1881, 1, p. 80

(56) GATES (F.) & OLITZKY (P.): Factors Influencing Anaerobiosis With special reference to the use of fresch tissus J. ot Exp. med 1921, 33 p. 51

(49) GHON & SACHS: Beiträge zur Kenntnis anaerober Bakterien des Menschen. *Zbl. f. Bakt.* 1903, I 32 p. 403

(13) GODLEWSKI: *Bot. Jahresber.* 1876 p. 833

(72) HAMMERL (H.): Ein Beitrag zur Züchtung der Anaerobier. *Zbl. f. Bakt.* 1901, 30 p, 658

(87) HARRAS (R.): Zur Frage der Anaerobezüchtung sog. obligat Anaerober Bakterien *M. m. W.* 1906 N° 46

(58) HAUSER: Ueber Fäulnisbakterien 1885

(76) HATA (S.): Ueber eine einfache Methode zur aerobischen Kultivierung der anaerobier mit besonderer Berüchsichtigung ihrer Toxinproduktion. *Zbl. f. Bakt* I 19 8 46 p. 539

(61) HEIM L.: Ueber Anaerobiotische Technik, einige Anaerobier und beginnende Eiweissfäulnis. *Zbl. f. Bakt.* 1910, 55 p. 337

(98) HENRY (H) : An investigation of the cultural reaction of certain anaerobiers found in vounds. *J. of. Bact & Path* 1916—17 21 p. 344

(42) HESSE (W. & R.): Ueber die Züchtung der Bazillen des malignen Oedems. *D. m. W.* 1885 p. 214

(39) HIBLER (E.): Zur Kenntnis der pathogenen Anaerobie. *Zbl. f. Bakt.* I 1913, 68, p. 257
Untersuchungen über die pathogenen Anaerobier *Gust. Fischer Jena* 1908

(112) HOPFFE: Bakteriologische Untersuchung-n über die Zelluloseverdauung. *Zbl. f. Bakt. und Par.* I 1929 83 p. 376

(8) HORNBERG: *Mémoire de l'Académie* Paris 1693

(59) HUPPE: Ueber die Verwendung von Eiern zu Kulturzwecken. *Zbl. f. Bakt.* 1888 IV p. 80

(113) JOFFARD (R).: Etude d'un Aspergillus nouveau: Aspergillus Gingivalis. N. sp *Thèse Strasbourg* 1936

(14) JUMELLE: Compt. rend. *Tome* CXII 1891 p. 920

(65) KAMEN (L.): Eine einfache Kulturschale für Anaeroben. *Zbl. f. Bakt.* 1891, 12 p. 297

(108) KIRCHNER (O.): Zur Technik der Anaerobenzüchtung. *Zbl. f. Bakt.* I 1924 91 p. 338

(68) KITASATO (S.) : Ueber den Rauschbrandbazillus und sein Kulturverfahren. *Zsch. f. Hyg.* 1889 VI p 105

(57.84) KITT (Th.): Vereinfachte Anaerobenkultur. *Zbl. f. Bakt.* I 1927 103 P 42. Die Züchtung des Rauschbrandbazillus bei Luftzutritt. *Zbl. f. Bakt.* 1895 I 17 p. 168

(29) KLEBS: Ueber die Bedingungen der Fortpflanzungen bei einigen Algen und Pilzen. *Müller Jena* 1906

(104) KLEIN (E.): Zur Kenntnis und Differentialdiagnose einiger Anaerobier. *Zbl. f. Bakt.* 1901 29 p. 992

(114) KLINCKSIECK & VALETTE: *Code des couleurs Klincksieck* Paris 1908

(96) KNORR (M.): Beiträge zur bakteriologischen Kulturmethoden. *Zbl. f. Bakt.* I 1921 86 p. 596

(93) KUERSTEINER (J.): Beiträge zur Untersuchungstechnike obligatanaerober Bakterien sowie zur Lehre von Anaerobiose überhaupt. *Zbl. f. Bakt.* 1907 II 19 p. 1

(6) LALLEMAND (Madame): Etude comparée de l'Anaerobiose assurée par la vaseline et les huiles minérales. *Bull. de Pharmacologie* 1932

(82) LECLAINCHE & VALLEE: Etude comparée du vibrion septique et de la bactérie du charbon symptomatique. *Ann. Pasteur* 1900, 14 p. 590

(95) LENTZ (O.): Ein neues Verfahren für die Anaerobenzüchtung. *Zbl. f. Bakt.* 1910, I 53 p. 358

(44) LIBORIUS (P.): Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. *Zschr. f. Hyg.* 1886 I p. 114

(74) LIEFMANN: Ein einfaches Verfahren zur Züchtung und Isolierung anaerober Keime. *Zbl. f. Bakt.* I 1908 46 p. 4

(10) LORY (CH.): *Ann. sc. nat. tome* VIII 1847 p. 158

(45) LUEDERITZ: Zur Kenntnis der Anaeroben Bakterien *Zschr. f. Hyg.* 1889 5 p. 141

(102) MAC INTOSCH & FILDES: Nouvelles méthodes d'isolation et de culture pour les microbes anaerobies. *Soc. Biol.* 1916 79 p. 293
An improved form of MAC INTOSCH an FILDES Anaerobic. *Journ. Br. of. exp. pratic.* 1921, 11 p. 153

(7) MALPIGHI: Anatome Plantar: *De séminum végétatione* Londres 1686

(71) MANTEUFEL (P.): Ein vereinfachtes Verfahren zur Plattenkultur sauerstoffscheuer Mikroorganismen. *Zbl. f. Bakt.* 1923, I 75 p. 565

(26) MATZISCHIKA: *Zsch. f. Hyg.* 1900 Bd. 35 p. 494

(79) MESSERSCHMIDT: Das Desinfektionsvermögen der Metalle und seine Ursachen mit besonderer Berücksichtigung des Kupfers. *Zsch. f. Hyg.* 1916 82 p. 289

(31) MUNK (M.): Ueber die Bedingungen der Coremien-Bildung bei Penicillum Mycol. *Zbl. Bd.* I, 1912 p. 387

(18) NENCKI (M.): *Pflügers Archive* 1884

(90) NICOLAIER: Beiträge zur Aetiologie des Wundstarrkrampfes. *Inaug. Diss Goettingen* 1885.

(66) NOVI (G.): Microbic respiration. *J. of. inf. dis.* 1925, 36 p. 343

(19.23) OMELIANSKY (W.): *Zbl. f. Bakt.* 1903 II p. 177

(92) OMELIANSKY (W.): Beiträge zur Differentialdiagnostik einiger pathogener Bakterienarten. *Zbl. f. Bakt.* 1903 I 34 p. 1

(16.17) PASTEUR: Flora 1863 p. 9.
Etude sur la bière 1876.

(60) PETRI (R.) & MAASEN (A.): Ein bequemes Verfahren für die Anaerobenzüchtung der Bakterien in Flüssigkeiten. *Zbl. f. Bakt.* 1893 I 8 p. 314

(77) PFUEHL (E.): Die Züchtung anaerober Bakterien in Leberbouillon und in gewöhnlicher Bouillon mit Zusatz von Platinschwamm oder Hepin unter Luftzutritt. *Zbl. f. Bakt.* 1906 I 44 p. 378

(100) PICK & POLLACZEK: Zur Methodik der Anaerobenzüchtung. *Zbl. f. Bakt.* 1927 I 104 p. 273

(51) PLAUT (H.): Anaerobiostische Anreicherung zur Reinzüchtung des Gasbazillus. *M. m. W.* 1917 p. 1383

(21.25) PORODKO (Th.): *Jahr. wiss. Bakt.* 1904 Bd. 4 p. 1

(101) RABENHORST : Kryptogamenflora I Bd. VII p. 80

(40) REUSCHEL (F.) : Die einfache Methode der Anaerobenzüchtung. *M. m. W.* 1906 N° 25

(52.73) RIVAS (D.): Ein Beitrag zu Anaerobenzüchtung. *Zbl. f. Bakt.* 1902 I 32 p. 831

(38) ROUX : Sur la culture des microbes anaérobies. *Ann. Pasteur* 1887 I p. 49

(35) SANFELICE : Untersuchungen über anaerobe Microorganismen. *Zsch. f. Hyg.* 1883 14 p. 364

(4) SARTORY(A.&R) HUFSCHMIDT(G.)& MEYER J.): Un cas d'onychomycose provoqué par un eurotium nouveau: Eurotium diplocyste n. sp. *C. R. Soc. Biol.* 1930 p. 882

(5) SARTORY (A. & R.) et MEYER (J) : Contribution à l'étude des onychomycoses. *Strasbourg Médical* 1930 5. octobre

(33) SARTORY (A. & R) et MEYER (J): Contribution à l'étude biologique de l'aspergillus fumigatus Freserius issu de couches sexuées et asexuées. *Soc. de Biol. de Strasbourg* 1928 p. 215

(2) SARTORY(A.&R.) et MEYER (J.) : Les champignons isolés des papiers avariés et utilisés par nous. Contributions à l'étude des maladies cryptogamiques du papier. *Congrès A. F. A. S.* Juillet 1933

(115) SARTORY (A & R) MEYER (J.) et SCHORLE (R.) : Influence du vide partiel ou poussé sur la croissance et la morphologie de quelques champignons inférieurs. *C. R. Ac Science* Octobre 1936

(116) SARTORY (A. & R.) MEYER (J) et SCHORLE(R.) : Influence du vide partiel ou poussé sur les propriétés biochimiques de quelques champignons inférieurs *C. R. Ac. Science* Novembre 1936

(1) SARTORY (R.) : Etude de la dégradation de la cellulose chez quelques insectes xylophages sous l'influence des microorganismes. *Thèse Strasbourg* 1929

(9) SAUSSURES : *Recherches chimiques* 1804 p 8 60—61

(85) SCHATTENFROH & GRASSBERGER: Das Rauschbrandgift. *Handbuch des Imm. Forsch.* 1908 I p. 161

(20) SELLARD: *Zbl. f. Bakt.* 1904 I 37 p. 632

(83) SMITH: Das Gärungskölbchen in der Bakteriologie. *Zbl. f. Bakt.* 1902 I 7 p. 502

(80) SUPFLE (K.): Ueber die Oligodynamische Metallwirkung auf Bakterien. *M. m. W.* 1920 p. 1160

(24. 86) TAROZZI (G.): Ueber ein leicht in aeroberweise ausführbahres Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaerobier gehaltenen Keimen. *Zbl. f. Bakt.* 1905 I 38 p. 619

(55) THOMSON (L.): Advantages of solid paraffin for Scaling anaérobic fluid cultures. *J. of myc dis* 1920 27 p. 240

(54) TIETZE (A.) et KORPSCH: Ueber Gasphlegmone. *D. m. W.* 1914 p. 2004

(81) TIZZONI CATTANI & BAGIUS: Bacteriologische Untersuchungen über den Tetanus. *Ziegelers Betr.* 1889 7 p. 596

(70) TRENCKMANN: Eine neue Methode der Kultur anaerober Bakterien. *Zbl. f. Bakt.* 1887 I p. 367

(47) VEILLON & ZUBER: Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie. *Ac. de Médecine* 1898, 10 p. 517

(43) WEICHSELBAUM: Beitrag zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. *Zbl. f. Bakt.* 1909 I 32 p. 401

(53) WEINBERG & SEGUIN: Reproductions expérimentales des formes de la gangrène gazeuse *C. R. Soc. Biol.* 1916 79 p. 1136

(77) WIELER (A.): Arb. a. d. *Botan. Inst. Tübingen* 1883 II p. 189

(92) WILSON (W): Points in the technique employed in the isolation and cultivation af anaerobic bacteries. *Br. m. J.* 1918 II p. 568

(75) WRZOSECK (A.): Beobachtungen über die Bedingungen des Wachstums der obligatorischen Anaerobier in aerober Weise. *Zbl. f. Bakt.* 1916 I 43 p. 17

(50) WUERCKER (C.): Ueber Anaerobiose, 2 Fäulniserreger und Bazillus Botulinus. *Phys. Med. Soc. Erlangen* 1909

(37) ZSCHOKKE (W.): Eine einfache Anaerobierplatte. *A. f. Tierheilk.* 1926, 68 p. 645

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction 11

PREMIÈRE PARTIE

Chapitre Ier Origine de l'anaerobiose. — Aperçu historique 13

Chapitre II. Les champignons isolés et décrits précédemment utilisés par nous 23

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

Chapitre Ier Etude d'un champignon d'une mycose dentaire: Aspergillus gingivalis n. sp. 33

Chapitre II. Description de l'appareil à vide avec lequel nous avons travaillé 39

Chapitre III. Mucor spinosus V. TIEGHEM en anaerobiose 41

Chapitre VI. Aspergillus fumigalus var. cellulosae en anaerobiose 45

Chapitre V. Eurotium diplocyste en anaerobiose . . 49

Chapitre VI. Aspergillus Gingivalis n. sp. en anaerobiose 53

Chapitre VII. Anaérobiose assurée par la vaseline et anaerobiose assurée par l'huile de paraffine 57

Conclusions 59

Bibliographie 61

Table des Matières 69

ERRATA

Lire page 21 :

à permettre la réunion du pyrogallol et de la lessive de soude etc...

Lire page 23 :

cette membrane se dissout etc...

Lire page 25 :

par des formes levures est etc...

Lire page 28 :

nous donnons à dessein etc...

Lire page 32 :

Dès le deuxième jour etc...

Lire page 49 :

Nous avons étudié etc...
régions jaunes et vertes à périthèces.

Lire page 52 :

Eurotium diplocyste etc...

Lire page 57 :

Mme Lallemand

Lire page 58 et 59 :

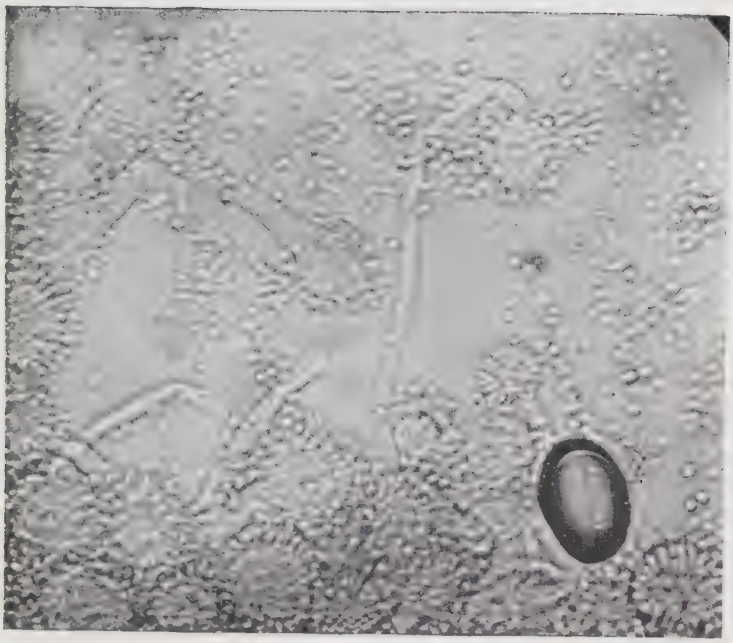
assimille

Vu :
Strasbourg, le 24 novembre 1936
Le Président du Jury,
A. SARTORY

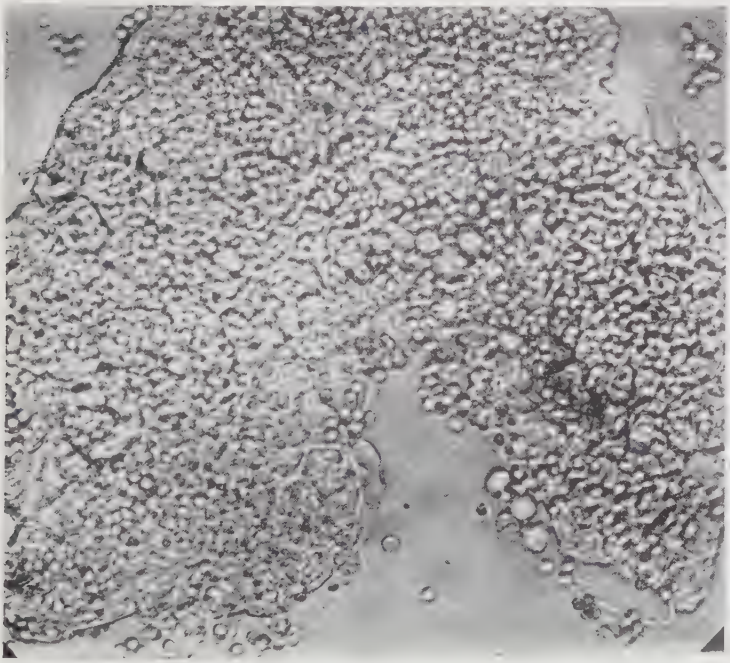
Vu et approuvé :
Strasbourg, le 24 novembre 1936
Le Doyen de Faculté de Pharmacie,
A. SARTORY

Vu et permis d'imprimer :
Strasbourg, le 26 novembre 1936
Le Recteur de l'Académie
Président du Conseil de l'Université
J. DRESCH

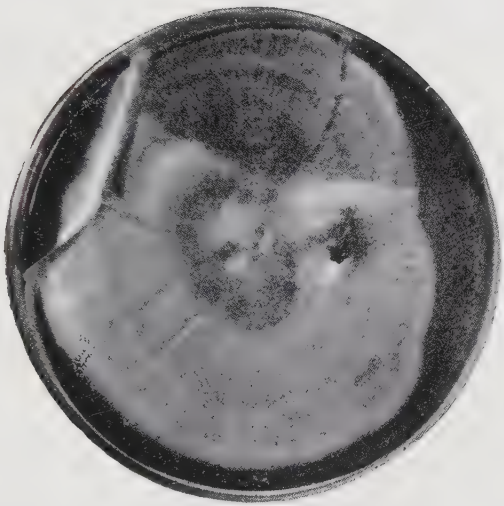
IMP. ACKERMANN, WISSEMBOURG



ASPERGILLUS GINGIVALIS n. sp.
Appareils conidiens avec phialides et spores

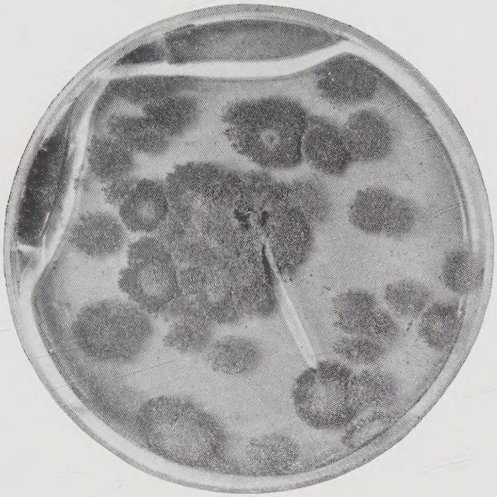


ASPERGILLUS GINGIVALIS n. sp.
Périthèce ouvert avec asques et ascospores

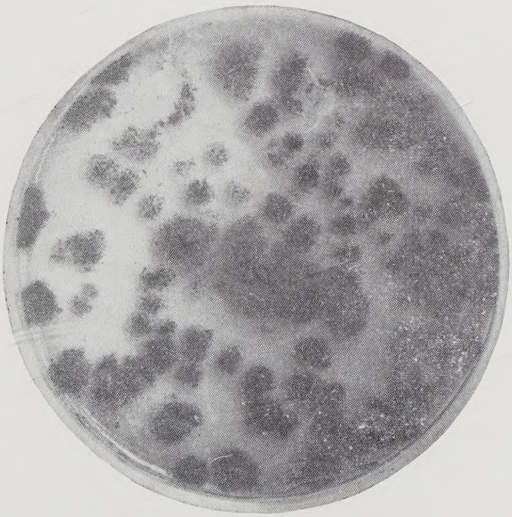


EUROTIUM DIPLOCYSTE
après 10 jours sur milieu de Raulin gelosé

EUROTIUM DIPLOCYSTE
après 18 jours sur un milieu de Raulin gelosé dans le vide



ASPERGILLUS GINGIVALIS n. sp.
aprés 10 jours sur milieu de Raulin gelosé



ASPERGILLUS GINGIVALIS n. sp.
aprés 18 jours dans le vide sur milieu de Raulin gelosé